

Fabiana Ariston Filgueira

**Estudo de títulos protetores para o vírus da hepatite B após
esquema vacinal de três doses e “booster” em crianças
com HIV**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Pediatria

Orientador: Prof. Dr. Evandro Roberto Baldacci

São Paulo

2008

A Deus, ao ser humano, ao maior mistério.

A um anjo chamado Fafá, minha irmã, exemplo de superação dos limites físicos, que me compreendeu e me apoiou, comunicando-se, muitas vezes, através de um expressivo olhar.

Aos meus pais, Eugênia e Antônio Filgueira, por tanto amor transmitido no lar que me ofereceram, porto seguro essencial para eu cumprir esta jornada.

À minha tia Eunice, energia positiva em todas as horas, que me impulsionou desde cedo à ampliação dos meus horizontes.

Aos meus avós, Zuleika e Joffre, *in memoriam*, que permanecem representando o equilíbrio entre a emoção e a razão, equilíbrio que tento manter em todos os meus projetos de vida.

Ao meu tio Jaime, *in memoriam*, exemplo luta pelos seus ideais e coragem ao enfrentar o vírus da hepatite.

À quem caminhou ao meu lado, me acompanhando nesses anos de crescimento profissional e pessoal, sendo assim, parte integrante desta história de evolução.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Evandro Roberto Baldacci, meu orientador, exemplo de médico e pesquisador, que me instigou com seus questionamentos científicos. Obrigada, sobretudo, pela sabedoria ao me guiar como um pai de bom senso nesta pesquisa, permitindo que eu desse meus próprios passos supervisionados.

À Dra. Heloísa Helena de Souza Marques, por suas valiosas sugestões, que enriqueceram esta dissertação, por seus conhecimentos acerca da criança HIV-positiva e por suas observações pessoais .

Ao Dr. Pedro Takanori Sakane, por compartilharmos o exercício e o gosto pelas mesmas especialidades (UTI e infectopediatria). Exemplo nas artes de ensinar e de conviver em grupo de trabalho. Um grande mestre.

À Dra. Helena Keiko Sato, quem me iniciou nos conhecimentos sobre imunizações. Por sua disponibilidade em me ajudar sempre e por sua serenidade e compromisso com os pacientes no nosso convívio no ambulatório de infectopediatria.

Ao Dr. Ulysses Doria Filho, pela maestria ao lidar com o programa SPSS na análise estatística e por suas observações pertinentes.

À Dra. Maria José Aguiar (UFRN-RN) e ao Dr. Bruno Vaz da Costa (SES-DF), pessoas fundamentais no meu despertar para o campo da infectopediatria.

Ao Prof. José Alfredo Lacerda de Jesus (UNB-DF) e às Profas Marilúcia Picanço e Vera Bezerra (UNB-DF) , pelo apoio na reta final de conclusão desta dissertação e por acreditarem tanto na minha competência.

À toda a equipe do ambulatório dos pacientes HIV-positivos, muitas dessas pessoas, pelo trajeto de colegas a amigas. Pela colaboração na coleta dos dados(Dra. Maria Zilda de Aquino, Samantha, Adriana, Isabel, Olívia, Paula, Regina, Ana Cristina, Vera, Fátima, Amélia).

À equipe da CCIH, sala de apoio para a pesquisa e palco das angústias e comemorações. Obrigada pela terapia de grupo (Dr. Taka, pela paz que transmite e incentivo: - Coragem Fabi!; Alfio, pelo empréstimo do seu computador; Ayako, pela ajuda com tabelas; Doris, por tanta torcida e pelas orações; Rosi, mais que uma super secretária, pelo seu bom humor e pela parceria da introdução ao ponto final .

À equipe do laboratório do Instituto da Criança pela realização das dosagens laboratoriais.

À Marisa da Biblioteca, sempre prestativa no tangente às referências bibliográficas.

À Adriana do CONDIR, pela paciência e eficiência, esclarecendo todas as minhas dúvidas com tantos prazos a serem cumpridos, formulários a serem preenchidos e normas mutantes a serem seguidas.

À Milene e Nivaldo pela simpatia, otimismo e competência com que atendem na xerox.

À Tânia Peixoto que me ajudou com a revisão ortográfica.

Aos meus grandes amigos que resistem ao tempo e às distâncias e me apoiaram incansavelmente nesta jornada: Hougelle e Mariana Simplício, Alessandra Barbosa, Andréa Barbosa, Claudine Revoredo, Giovana Melo, Sheila Nóbrega, Renata Perazzo, Fernanda Marcelino, Vera Sugimoto, Carmen Célia Chohfi, Miguel e Yanna Mattos e Beatriz (sobrinha serelepe).

Aos pais e pacientes, por se doarem, depositando em nossa pesquisa esperança de melhor qualidade de vida.

Muito obrigada.

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará pela vida sem ver nada.”

Albert Einstein

“Podemos fazer tudo o que quisermos, desde que nos apeguemos ao que queremos por tempo suficiente” .

Helen Keller

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço 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. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

SUMÁRIO

Lista de tabelas e quadro	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Histórico da hepatite B.....	1
1.2. Epidemiologia.....	3
1.3. Co-infecção pelo HIV e pelo HBV.....	6
1.4. Agente etiológico (vírus da hepatite B – HBV).....	8
1.5. Marcadores sorológicos da hepatite B.....	10
1.6. Vacinas contra a hepatite B.....	16
1.6.1. Vacinas de primeira geração.....	17
1.6.2. Vacinas de segunda geração.....	18
1.6.3. Vacinas de terceira geração.....	19
1.6.4. Vacinas disponíveis na América Latina.....	19
1.6.5. Duração da proteção da vacina da hepatite B.....	20
1.7. Imunização no paciente com HIV.....	23
1.7.1. Memória imunológica.....	25
1.7.2. Resposta vacinal das crianças filhas de mães HIV-positivas.....	31
1.7.3. Resposta à vacina da hepatite B em HIV-positivos.....	33
1.8. Uso de adjuvantes – uma proposta futura.....	36
2. OBJETIVOS.....	39
2.1. Gerais.....	39
2.2. Específicos.....	40
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	41

3.1.	População em estudo.....	41
3.2.	Critério de inclusão.....	42
3.3.	Critérios de exclusão.....	43
3.4.	Desenho do estudo.....	43
3.5.	Vacina utilizada.....	45
3.6.	Dosagens laboratoriais.....	45
3.6.1.	Dosagem do anti-HBs.....	45
3.6.2.	Dosagem da carga viral.....	46
3.6.3.	Dosagem de linfócitos CD4/CD8.....	46
3.7.	Análise estatística.....	47
3.8.	Aspectos éticos.....	47
4.	RESULTADOS.....	48
4.1.	Resultados após primeira dosagem sorológica.....	48
4.1.1.	Freqüência de títulos protetores.....	48
4.1.2.	Associação de títulos protetores e classificação clínico-imunológica....	49
4.1.3.	Análise do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e a primeira dosagem sorológica (anti-HBs).....	51
4.2.	Resultados após segunda dosagem sorológica.....	52
4.2.1.	Freqüência de títulos protetores.....	52
4.2.2.	Associação entre imunodepressão e títulos protetores após “booster”.	53
4.2.3.	Associação entre carga viral e títulos protetores após “booster”.....	54
4.2.4.	Análise do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e o “booster”.....	55
5.	DISCUSSÃO.....	57
6.	CONCLUSÕES.....	65
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Constituição do genoma do HBV e suas estruturas gênicas.	10
Figura 2	- Evolução temporal dos marcadores sorológicos da hepatite B aguda.....	15
Figura 3	- Desenho do estudo.....	44
Figura 4	- Frequência de títulos protetores após esquema vacinal de três doses nas 70 crianças incluídas no estudo.....	49
Figura 5	- Distribuição do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e a primeira dosagem sorológica (anti-HBs) nas 70 crianças do estudo, conforme a presença de títulos protetores ou não.....	51
Figura 6	- Frequência de títulos protetores após “booster” nas 50 crianças sem títulos protetores após esquema vacinal de três doses.....	52
Figura 7	- Distribuição do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e o “booster” nas 50 crianças sem títulos protetores após esquema vacinal de três doses.....	56

LISTA DE TABELAS E QUADRO

Tabela 1	- Distribuição das crianças com títulos protetores ou não, pela classificação clínico-imunológica.....	50
Tabela 2	- Distribuição das 50 crianças com e sem títulos protetores após “booster” conforme imunodepressão.....	54
Tabela 3	- Distribuição das 50 crianças com e sem títulos protetores após “booster” conforme a carga viral.....	55
Quadro 1	- Categorias imunológicas da classificação da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes menores de 13 anos	42

RESUMO

Filgueira FA. *Estudo de títulos protetores para o vírus da hepatite B após esquema vacinal de três doses e “booster” em crianças com HIV* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008.

INTRODUÇÃO: A hepatite B é uma enfermidade para a qual não existe tratamento curativo efetivo e que pode determinar graves conseqüências, como o desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepático. Segundo dados da OMS, mais de dois bilhões de pessoas estão infectadas pelo vírus da hepatite B e esta doença é responsável por 500.000 a um milhão de óbitos por ano, em todo o mundo. Em pacientes com infecção pelo HIV, é freqüente a co-infecção pelo vírus da hepatite B, pelo fato de serem vírus que compartilham modos semelhantes de transmissão. Em vista dessa problemática, a adequada imunização dos pacientes infectados pelo vírus HIV é fundamental para a prevenção da hepatite B. A recomendação atual do Ministério da Saúde para vacinação de crianças HIV-positivas é a realização do esquema de quatro doses (zero, um, seis e doze meses), com dose dupla. **OBJETIVOS:** Estudar a resposta sorológica ao “booster” com vacina da hepatite B em crianças HIV-positivas, previamente vacinadas com três doses duplas que não apresentaram títulos protetores. Estudar a associação dos níveis de CD4 e carga viral no momento do “booster”. Estudar a associação do intervalo de tempo entre a primovacinação e a primeira avaliação sorológica com a presença de títulos protetores, bem como a associação do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e o “booster” com a presença de títulos protetores. **METODOLOGIA:** O presente trabalho é um estudo prospectivo descritivo de uma coorte de 70 crianças com HIV do total de 187 matriculadas em seguimento no ambulatório de Infectologia do Instituto da Criança (HCFMUSP), no período de agosto de 2005 a novembro de 2006. Em um primeiro momento, realizou-se a dosagem sorológica do anti-HBs dos pacientes que preencheram os critérios de inclusão. Em um segundo momento, nos pacientes que não apresentaram títulos de anti-HBs maiores que 10 mUI/mL, aplicou-se a dose “booster” da vacina (20 µg). Realizou-se dosagem sorológica nos pacientes que receberam a dose “booster”, no período de um a três meses depois. **RESULTADOS:** Observou-se que a maioria dos pacientes (50 = 71,4%) não apresentava títulos de anti-HBs >10 mUI/mL no momento da primeira avaliação laboratorial. A média do intervalo de tempo entre a terceira dose da vacina e a dosagem sorológica nos pacientes que apresentaram títulos protetores foi de 53,8 meses, enquanto que a média de tempo no grupo que não apresentou títulos protetores foi de 74,0 meses ($p = 0,007$). A freqüência de títulos não protetores após dose “booster” foi de 68%, enquanto apenas 32% apresentaram sorologia protetora após “booster”. Os dados deste estudo não mostraram associação estatisticamente significante entre níveis de CD4 e carga viral com resposta à dose “booster”. **CONCLUSÕES:** O estudo do intervalo de tempo entre a última dose da primovacinação e a feitura da sorologia sugere haver uma tendência à queda de títulos protetores (anti-HBs) ao longo do tempo. Após a dose dupla do “booster”, ainda se manteve uma predominância de não-resposta sorológica ou resposta com títulos não protetores à vacina da hepatite B nas crianças com HIV, neste estudo.

Descritores: vacinas contra hepatite B, infecções por HIV, anticorpos anti-hepatite B, imunização secundária, criança

SUMMARY

Filgueira FA. *Study of protective titles for hepatitis B virus after a three-dose and booster vaccination schedule in HIV-infected children* [dissertation]. Sao Paulo: School of Medicine, University of São Paulo, SP (Brazil); 2008.

INTRODUCTION: Hepatitis B is a disease for which there is no effective healing treatment and which can bring about such severe consequences as cirrhosis and hepatocellular carcinoma . According to the World Health Organization (WHO), more than two billion people are currently infected with the hepatitis B virus and the disease is responsible for half a million to one million deaths a year worldwide. Co-infection with hepatitis B virus is common in HIV-infected patients, since both viruses share similar transmission means. Within this context, adequate immunization of HIV-infected people is crucial for hepatitis B prevention. The current recommendation from the Ministry of Health in Brazil for HIV-positive children vaccination is the four-dose schedule (0, 1,6 and 12months) with a double dose.

OBJECTIVES: Study the serologic response to a booster dose with the hepatitis B vaccine in HIV-infected children who had been previously vaccinated with three double doses but did not present protective titles. Study the relationship of CD4 levels and the viral load with protective titles at the time of the booster. Study the relationship between the time gap from the first vaccination to the first serologic evaluation and the presence of protective titles, as well as the relationship between the time gap from the third vaccine dose to the booster and the presence of protective titles.

METHODOLOGY: The present research consists of a prospective descriptive study of a sample of 70 HIV-infected children out of a total of 187 children enrolled in a follow-up program at the Infectology sector of the *Instituto da Criança* (Children's Institute – HCFMUSP) from August 2005 through November 2006. First of all, the patients who met the admission criteria had their anti-HBs serologic titles tested. Then the ones whose anti-HBs serologic titles were lower than 10 mUI/mL received a vaccine booster (20 µg). Those patients who received the booster had their serologic titles tested again between one and three months after that.

RESULTS: It was found that most patients (50=71.4%) did not present anti-HBs serologic titles > 10 mUI/mL at the moment of the first laboratory evaluation. The average time gap between the third dose of the vaccine and the serologic testing of the patients who presented protective titles was of 53.8 months, while the average time in the group who lacked protective titles was of 74 months ($p=0.007$). The rate of no protective titles after the booster dose in those patients was 68%; on the other hand, only 32% presented protective serology after the booster. The study's data did not show a statistically significant relationship between CD4 levels and viral load with the response to the booster dose.

CONCLUSIONS: The study of the time gap between the last dose of the first vaccination and the serology testing suggests that the protective titles (anti-HBs) tend to decrease with time. The serologic lack of response or the nonprotective titles response to hepatitis B vaccine prevailed in the study sample of HIV-infected children even after they received the booster double dose.

Descriptors: hepatitis B vaccines, HIV infections, hepatitis B antibodies, secondary immunization, child

1. INTRODUÇÃO

1.1. Histórico da hepatite B

Apenas as mentes preparadas são favorecidas pelo acaso, segundo Louis Pasteur. Nesse contexto, a descoberta do HBV teve caráter puramente acidental, ou ocorreu “por acaso”. Certo dia, em 1964, um geneticista americano chamado Baruch Blumberg e colaboradores, enquanto estudavam anticorpos contra lipoproteínas séricas em pacientes que tinham recebido transfusão de sangue, identificaram no soro pertencente a um aborígine australiano a presença de um antígeno que reagia com o soro de dois doentes hemofílicos politransfundidos.

O antígeno descoberto foi denominado, pelos autores, Antígeno Austrália (AgAu). A distribuição do AgAu em várias populações, como reportado no estudo inicial e pioneiro de Blumberg, revelou os seguintes resultados: de um total de 1.704 amostras testadas para o AgAu, 38 (2,3%) foram positivas, sendo que a maioria foi reativa entre nativos de Taiwan e aborígenes australianos.

Após a descoberta do referido antígeno e de acordo com o próprio Blumberg, um questionamento o deixava perplexo e uma pergunta o deixava preocupado: “What is this Australia antigen?”.

Inicialmente, Blumberg, focando a associação da leucemia com o AgAu, levantou a hipótese de que a presença de tal antígeno entre pacientes leucêmicos poderia ser uma predisposição herdada para leucemia, ou um agente causal, ou até um fator predisponente para o desenvolvimento da

leucemia. Estudos subseqüentes sobre o AgAu revelaram uma alta freqüência deste entre portadores da síndrome de Down institucionalizados (30%), quando comparada com pacientes leucêmicos (10%) e portadores de Down vivendo em casa (1%). Qual a razão desses achados, já que os portadores da síndrome de Down eram todos negativos para o AgAu por ocasião do nascimento? Testando amostras de soro dos portadores de Down, Blumberg verificou que a Alanina Amino Transferase (ALT) apresentava níveis significativos e elevados entre os positivos para tal antígeno, fato não observado entre os portadores de AgAu negativo.

A peça final da ligação entre o AgAu e a hepatite aconteceu quando Barbara Werner, uma investigadora do laboratório de Blumberg, desenvolveu quadro clínico e bioquímico de hepatite aguda. Testada para o AgAu, ela foi positiva. Previamente, a referida investigadora tinha servido de controle negativo para o AgAu.

Em 1967, Blumberg e colaboradores haviam sugerido, pela primeira vez, que a alta freqüência do AgAu no soro de pacientes com hepatite aguda poderia estar relacionada a um suposto “vírus” introduzido em humanos por transfusões de sangue.

Independentemente dos achados de Blumberg em 1964 e 1967, Prince isolou, em 1968, outro antígeno no sangue durante o período de incubação de uma hepatite pós-transfusional.

O referido antígeno foi denominado por Prince de antígeno SH, relativo à hepatite sérica. Posteriormente, comprovou-se que o antígeno SH de Prince era o mesmo AgAu de Blumberg.

Finalmente, em 1970, Dane e colaboradores demonstraram, por microscopia eletrônica em soros positivos para o AgAu, uma terceira partícula de forma esférica, medindo cerca de 40 nm. Em 1971, Almeida e colegas caracterizaram o que chamaram de Partícula de Dane, de pacote viral completo do HBV. A partícula de Dane constituía-se em um invólucro externo e um núcleo, sendo que o invólucro externo correspondia ao AgAu, passando, posteriormente, a ser designado como antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg).

A primeira publicação sobre a presença do AgAu no Brasil deu-se em 1970, por Salzano & Blumberg. Quando estudaram amostras de pacientes brasileiros para o referido antígeno, os autores revelaram uma prevalência de 0,5% entre indivíduos sadios, de 0% entre portadores de Hansen e de 4% entre portadores de leucemia, com prevalência total de 0,6% para o AgAu. Grande parte das amostras estudadas pertencia a indivíduos e pacientes nativos de Porto Alegre (RS) e Florianópolis (SC), segundo Sousa e colegas no I Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B e Delta.

1.2. Epidemiologia

Segundo dados da “World Health Organization” (WHO) de 2005, mais de dois bilhões de pessoas estão infectadas pelo vírus da hepatite B, há 360

milhões de infectados crônicos e essa doença é responsável por meio milhão a um milhão de óbitos por ano em todo o mundo.

A epidemiologia global da infecção pelo HBV tem sido descrita, tradicionalmente, de acordo com três categorias de endemicidade – alta, intermediária e baixa –, dependendo da proporção da população que é soropositiva para o HBsAg. Países com alta endemicidade são aqueles onde a soroprevalência do HBsAg é maior que 8% ou igual a esse valor; países com endemicidade intermediária são aqueles em que a soroprevalência é de 2% a 7%; e países com baixa endemicidade são aqueles onde a soroprevalência é menor que 2% (Shepard et al., 2006).

Nesse contexto, o Brasil está classificado como um país de baixa prevalência; entretanto, devido à particularidade da região amazônica, esta é considerada área de alta prevalência da infecção.

Os dados mundiais mostram, portanto, que não há uma distribuição uniforme da patologia, estando essa desigualdade relacionada à variabilidade dos mecanismos de transmissão em função das condições socioeconômicas, sanitárias e culturais das diferentes regiões geográficas.

A transmissão do HBV tem sido observada através de várias formas de contato humano: perinatal, contatos domiciliares (não sexuais), sexual e parenteral. As maiores concentrações do vírus infectante são encontradas no sangue. Entretanto, outros líquidos orgânicos, como sêmen e saliva, são também infectantes. As grandes quantidades do vírus no soro e outros líquidos orgânicos ($\sim 10^8$ cópias/mL) permitem a transmissão pela mucosa e via percutânea, com eficiência maior que a transmissão observada com o

vírus da hepatite C ($\sim 10^6$ cópias/mL) ou o vírus da imunodeficiência humana (HIV, $\sim 10^4$ cópias/mL) (Ocama et al., 2005). As pessoas com a infecção crônica são os maiores reservatórios para a transmissão da doença, embora qualquer pessoa portadora do HBsAg seja potencialmente infectante por meio de contatos domiciliares e sexuais. Como o vírus pode permanecer estável e infectante em superfícies por pelo menos sete dias, a transmissão indireta é possível através de superfícies contaminadas e objetos.

Entre os modos de transmissão desta doença, a transmissão perinatal é responsável por 15% das mortes relacionadas ao HBV, inclusive nas áreas de menor endemicidade (WHO, 2005).

A transmissão perinatal do HBV ocorre, geralmente, durante o parto. A transmissão intra-uterina pode acontecer, mas é rara e está relacionada com menos de 2% de toda a transmissão perinatal. O risco de aquisição da infecção perinatal é de 5% a 20% em crianças nascidas de mães HBsAg positivas e de 70% a 90% se a mãe é HBeAg positiva (antígeno marcador de replicação viral) (Shepard et al.; 2006).

A hepatite B é uma enfermidade para a qual não existe tratamento curativo efetivo e que pode, a longo prazo, determinar graves conseqüências, como o desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepático. Aproximadamente um terço de todos os casos de cirrose e metade de todos os casos de carcinoma hepatocelular são atribuídos à infecção crônica pelo HBV (Shepard et al., 2006). A cronicidade da infecção pelo HBV é definida pela presença do HBsAg no soro por, no mínimo, seis meses. Estima-se que 10% de todas as infecções pelo HBV progridem para infecção crônica

(Ropero et al., 2005). Devido à associação inversamente proporcional entre idade e risco de infecção crônica, pessoas infectadas quando crianças assumem uma grande parcela na morbidade e mortalidade atribuída ao HBV. Até 25% das crianças que adquirem HBV desenvolvem, eventualmente, carcinoma hepatocelular e cirrose. Adultos infectados durante a infância desenvolvem carcinoma hepatocelular em uma frequência de 5% por década, o que corresponde a 100-300 vezes a frequência em pessoas não infectadas (Shepard et al., 2006).

Em 25% a 50% das crianças infectadas entre um e cinco anos de idade e em 6% a 10% das crianças maiores de cinco anos e adultos infectados agudamente há evolução para cronicidade, segundo dados do “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC, 2005).

As pessoas com hepatite B crônica têm um risco de 15% a 25% de morte precoce relacionada à cirrose e ao hepatocarcinoma (WHO, 2005). Os pacientes imunocomprometidos são, nesse contexto, grupo de alto risco para o desenvolvimento da infecção crônica e para morte precoce.

1.3. Co-infecção pelo HIV e pelo HBV

A co-infecção pelo HIV e pelo HBV é freqüente, já que ambos os vírus têm a mesma forma de transmissão (parenteral, sexual e vertical).

Trinta a noventa por cento dos pacientes HIV-positivos têm, pelo menos, um marcador sorológico para hepatite B, ao passo que 10% a 20%

dos pacientes são carreadores crônicos do HBsAg. Além disso, várias diferenças na história natural da doença do HBV têm sido observadas em pacientes portadores do vírus HIV em comparação com pacientes HIV-negativos, incluindo maior progressão para a doença crônica e maior replicação do HBV, o que resulta em risco aumentado para transmissão deste vírus (Rey et al., 2000).

A história natural da hepatite B (HBV) demonstra a evolução para a cronicidade em 5% a 10% dos indivíduos adultos imunocompetentes infectados por este vírus. Já nos pacientes infectados pelo HIV, tal evolução é cerca de cinco vezes mais freqüente.

Dados atuais indicam que fatores virais específicos, tais como a extensão da viremia, genótipos (A-H) ou a emergência de escapes mutantes, não resultam em diferenças entre pacientes co-infectados pelo HIV-HBV e indivíduos imunocompetentes; no entanto, Lacombe e colaboradores demonstraram a importância da genotipagem do HBV no prognóstico e na resposta terapêutica no paciente co-infectado, definindo o genótipo G como indutor de uma rápida progressão para fibrose hepática.

Com respeito à importância da genotipagem do vírus da hepatite B nos indivíduos de comportamento de risco, o genótipo A acomete, principalmente, homossexuais homens que tendem a ser HBeAg positivos, sendo o genótipo D associado aos indivíduos usuários de drogas endovenosas e portadores do vírus mutante HBeAg negativo (Sousa et al.; 2006).

1.4. Agente etiológico (vírus da hepatite B – HBV)

O vírus da hepatite B é um vírus de estrutura complexa pertencente ao grupo *Hepadnaviridae*, o qual se caracteriza por possuir um genoma constituído por ácido desoxirribonucléico (DNA) e por ser hepatotrofo em diferentes espécies animais.

No soro de pacientes infectados, é possível observar, ao microscópio eletrônico, a existência de três tipos de partículas relacionadas ao HBV. As de tamanho maior têm forma esférica, medem 42 nm de diâmetro e correspondem ao vírion infeccioso ou partícula de Dane. Essas partículas estão constituídas por uma cobertura externa que se compõe de proteínas, lipídios e hidratos de carbono, bem como por um núcleo central, “core” ou núcleo cápside de 27 nm. A cobertura externa contém o antígeno de superfície do HBV (HBsAg), cuja estrutura e composição antigênicas são idênticas às dos outros dois tipos de partículas, esféricas e tubulares, de 22 nm de diâmetro, que representam as coberturas vazias ou proteínas em excesso que são encontradas em elevadas concentrações no sangue circulante. O núcleo central ou núcleo cápside da partícula de Dane contém o denominado antígeno do “core” do HBV (HBcAg) e outro antígeno muito relacionado a ele, o antígeno “e” (HBeAg). O HBeAg é um antígeno solúvel e sua concentração no soro é proporcional à das partículas de Dane, que seriam as partículas infecciosas. O núcleo cápside contém, além disso, o DNA vírico circular, disposto em forma de cadeia dupla, e, pelo menos, duas

enzimas com atividade proteinoquinase e DNA-polimerase.

O genoma do HBV (Figura 1) é formado por uma cadeia dupla de DNA, uma longa e outra curta, disposta circularmente. A cadeia longa possui cerca de 3.200 nucleotídeos, enquanto que a curta tem uma longitude variável, entre 50% e 100% dos nucleotídeos da cadeia longa. Nesta última, existem quatro zonas de transcrição ou zonas de "leitura aberta", denominadas S, C, P e X. A região S subdivide-se, por sua vez, em três regiões: S, pré-S2 e pré-S1, que codificam as proteínas da cobertura viral, chamadas: proteína principal (HBsAg), proteína mediana (pré-S2) e proteína maior (pré-S1). A proteína pré-S2 seria responsável pela fixação do HBV ao hepatócito através da albumina sérica polimerizada, que serviria de ponte. O gene C codifica as proteínas do núcleo cápside. A proteína principal do "core" contém o HBcAg, que não se encontra na forma livre no sangue. O HBeAg, proteína solúvel presente no sangue, contém as mesmas seqüências de aminoácidos que o HBcAg e uma série de aminoácidos adicionais codificados pela região "pre-core" do genoma, o que o torna imunologicamente distinto do HBcAg. A região P dá lugar a uma proteína básica na qual parece residir a atividade DNA-polimerase viral, associada, por sua vez, a uma transcriptase reversa. A região X codifica uma proteína cuja função, todavia, não é bem conhecida (Tregnaghi et al.; 2005).

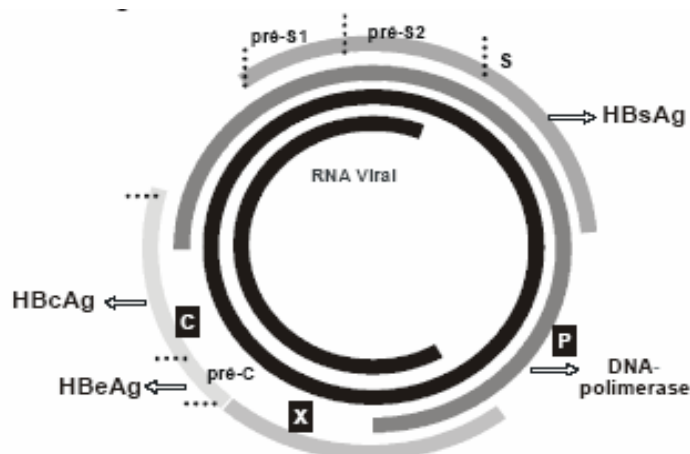


Figura 1 – Constituição do genoma do HBV e suas estruturas gênicas

Fonte: Sousa, A.Q. I Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B e Delta. The Brazilian Journal of Infectious Diseases. Ago 2006;10(Supl 1).

1.5. Marcadores sorológicos da hepatite B

A resposta imune em portadores do HBV imunocompetentes, cedo ou tarde, leva à produção dos correspondentes anticorpos contra os antígenos virais que são: anti-HBc, anti-HBe e anti-HBs. Todos os antígenos e anticorpos podem ser identificados e utilizados no diagnóstico, durante o curso da infecção pelo HBV.

A identificação dos constituintes do HBV, nas diferentes fases evolutivas da infecção, pode ser realizada por testes sorológicos (pesquisa de antígenos e anticorpos) e moleculares (pesquisa qualitativa e quantitativa do DNA do HBV). Além disso, pode ser realizada a pesquisa dos antígenos HBsAg e HBcAg no tecido hepático (marcadores virais teciduais) pela imunohistoquímica.

Os testes mais utilizados no diagnóstico sorológico são os ensaios imunoenzimáticos (EIA), os quais são baseados na imobilização do antígeno ou anticorpo em um suporte sólido, geralmente, no fundo de microplacas. Um antígeno ou anticorpo complementar, presente na amostra a ser testada, é adicionado por simples aplicação; então, esse complexo antígeno-anticorpo é detectado por outro antígeno ou anticorpo marcado com enzima. Esta, acoplada ao antígeno ou anticorpo, é capaz de catalisar a reação quando o substrato é adicionado, produzindo uma reação de oxidação que gera uma cor. Tal reação colorimétrica é medida e pode gerar resultados quantitativos ou qualitativos (reagente ou não reagente).

O período de incubação (PI) do HBV varia de 50 a 180 dias. Um resultado confirmando a presença do HBsAg indica, na maioria das vezes, uma infecção pelo HBV. Na prática, todos os indivíduos HBsAg positivos devem ser considerados infectantes. Em pessoas recentemente infectadas, o HBsAg é o único marcador sorológico detectável durante as primeiras três a cinco semanas após a exposição, persistindo por um período variável. O tempo médio para a detecção do HBsAg, após a exposição, é de 30 dias. Entre duas e seis semanas antes do aparecimento da icterícia, o HBsAg e o HBeAg podem ser detectados no soro, indicando a presença do HBV replicante e infectante. O HBeAg é, portanto, um marcador de replicação e infecciosidade do HBV e sua presença, usualmente, se associa à positividade do DNA do HBV, no soro, com alto risco de transmissão da infecção. Testes de detecção do ácido nucléico, com alta sensibilidade, podem revelar o DNA do HBV, no soro de uma pessoa infectada, 10 a 20

dias antes da descoberta do HBsAg. A positividade transitória do HBsAg pode ser observada 18 dias após a vacinação contra a hepatite B, sem nenhum significado clínico. O HBcAg é um antígeno intracelular, insolúvel, que não pode ser detectado no soro. O anti-HBc IgM aparece no início dos sintomas, até 30 dias após o aparecimento do HBsAg, ou durante o período em que os testes bioquímicos hepáticos ficam alterados, na infecção aguda. A fração IgM do anti-HBc pode estar elevada, de maneira intermitente, em parte dos pacientes com hepatite crônica pelo vírus B, durante os períodos de reativação da doença. Em adição, resultados falso-positivos para o anti-HBc IgM podem ocorrer, porque o valor preditivo positivo é baixo em indivíduos assintomáticos.

Para o diagnóstico de HBV aguda, o teste do anti-HBc IgM só deve ser considerado em indivíduos com evidências clínicas de HBV aguda ou em casos que tenham ligações epidemiológicas. O anti-HBc total, geralmente, persiste por toda a vida da pessoa infectada pelo HBV. O anti-HBc total é considerado um marcador de infecção pregressa do HBV.

A presença do HBeAg (positivo) indica replicação ativa do HBV. Entretanto, a sua ausência não pode ser assumida como ausência de replicação viral, porque, em pacientes com mutação do “pre-core” ou do “core promoter”, o HBeAg não é detectável. O aparecimento do anti-HBe evidencia, em geral, que o indivíduo está caminhando para a recuperação, pois é considerado indicativo de diminuição de replicação viral, com conseqüente queda na infecciosidade (exceto em mutante “pre-core” e “core promoter”).

Em indivíduos que se recuperam da infecção pelo HBV, o HBsAg é eliminado do sangue, habitualmente, dentro de três a quatro meses, aumentando, progressivamente, a concentração do anti-HBs no soro. A presença do anti-HBs indica, na maioria das vezes, imunidade à infecção pelo HBV (exceto em mutações da região S). Infecção ou imunização com um genótipo do HBV confere imunidade a todos os outros genótipos. Em outras ocasiões, o anti-HBs pode ser detectado vários meses após a administração de imunoglobulina hiperimune (HBIG).

A maioria dos indivíduos que se recuperam de uma infecção natural apresenta positividade para o anti-HBc e anti-HBs, enquanto que pessoas imunizadas por vacina contra o HBV só apresentarão o anti-HBs positivo. Nos indivíduos com infecção crônica pelo HBV, o HBsAg e o anti-HBc persistem positivos, habitualmente, por toda a vida. Em 0,5% a 2% dos pacientes com infecção crônica, o HBsAg irá se tornar indetectável, ao longo da evolução da doença, e o anti-HBs será positivo na maioria desses casos. Existe um período chamado janela imunológica em que não se detecta o HBsAg no soro e, também, ainda não está presente o anti-HBs. Nesse período, o diagnóstico de infecção pelo HBV é evidenciado pela pesquisa do anti-HBc. O anti-HBc isolado pode ocorrer após a infecção aguda pelo HBV entre pessoas que se recuperaram, mas nas quais a concentração do anti-HBs é ainda muito baixa ou quando ainda o mesmo não foi sintetizado. Incluem-se aqui, também, os casos em que o nível de HBsAg circulante é muito baixo (menor que 10⁸ partículas/mL), não podendo ser detectado por nenhum ensaio sorológico comercial. O perfil sorológico será de anti-HBc

isoladamente positivo. Esses indivíduos não são considerados infectantes, mas podem ser fontes diretas para contaminação percutânea de receptores susceptíveis a baixas quantidades de vírus (transusão de sangue, transplante de órgãos). O DNA do HBV pode ser detectado no sangue de pelo menos 5% das pessoas com anti-HBc isoladamente positivos. Habitualmente, a frequência de anti-HBc isolado está diretamente correlacionada com a frequência do HBV na população. Em populações com alta prevalência do HBV, o anti-HBc isolado indica, provavelmente, infecção prévia, com perda do anti-HBs. Por outro lado, em indivíduos fora de áreas endêmicas, com baixa prevalência para o HBV, o encontro do anti-HBc isolado representa, na maior parte das vezes, resultado falso-positivo. A maioria dessas pessoas tem uma resposta primária ao anti-HBs após três doses da vacina. Assim, o anti-HBc pode ser detectado durante a fase de antigenemia do HBsAg (fase aguda), na fase intermediária (janela imunológica) e no decorrer da fase de convalescença e de imunidade, usualmente, associado ao anti-HBs.

Crianças nascidas de mães HBsAg positivas e que não se tornaram infectadas podem apresentar o anti-HBc detectável por até 24 meses após o nascimento, por transferência passiva dos anticorpos maternos. Em pacientes que evoluem para a HBV crônica, o HBsAg permanecerá detectável, no soro, por mais de seis meses. Nas HBV crônicas, o HBeAg poderá permanecer reagente por vários anos ou apresentar soroconversão em um período de tempo variável. A soroconversão é caracterizada pelo surgimento do anti-HBe, com o conseqüente desaparecimento do antígeno,

e associada à “negativação” do DNA do HBV no soro (exceto nos casos de mutação da região do “pre-core”). A fase de convalescença da infecção, que se caracteriza pela perda do HBsAg e pelo desenvolvimento do anti-HBs, pode ocorrer em um número restrito de pacientes com infecção crônica pelo HBV (Sousa et al.; 2006) (Figura 2).

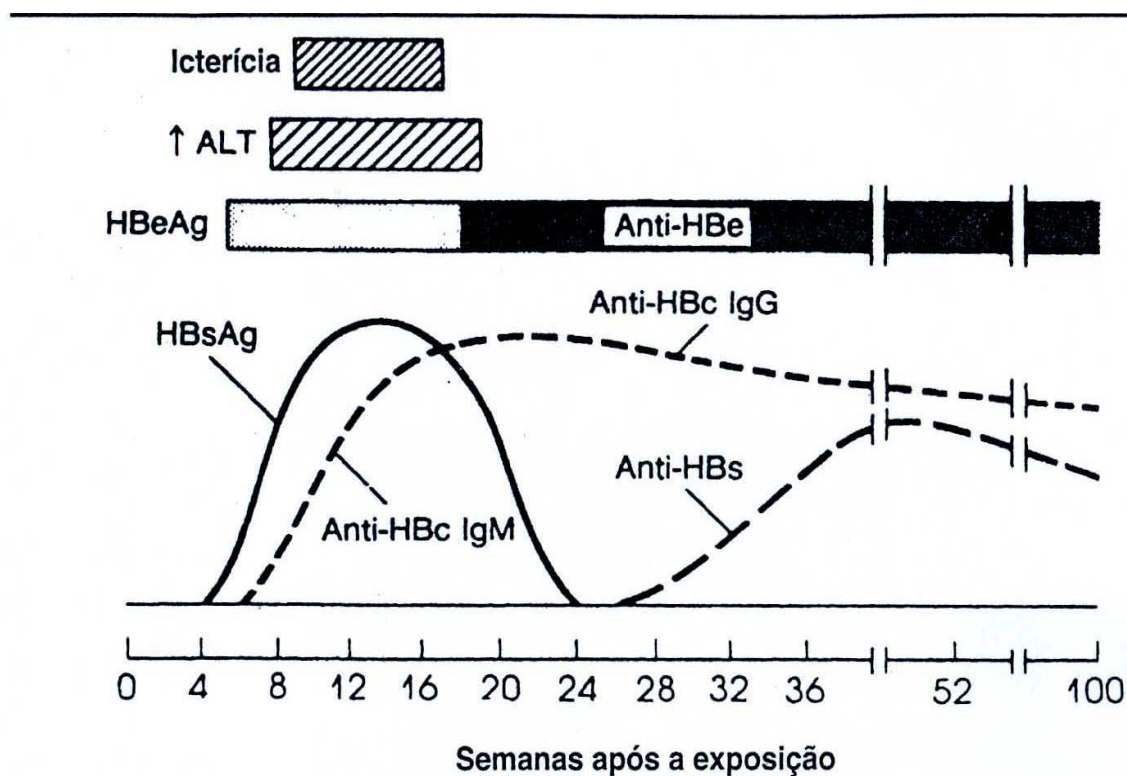


Figura 2 – Evolução temporal dos marcadores sorológicos da hepatite B

Fonte: Sousa, A.Q. I Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B e Delta. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. Ago 2006;10(Supl 1).

1.6. Vacinas contra a hepatite B

A estratégia para o controle da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV), como é divulgada pela Organização Mundial de Saúde e endossada pelo órgão americano “Advisory Committee on Immunization Practices” (ACIP), é a introdução da imunização ao nascimento. Essa estratégia objetiva reduzir o risco de aquisição do HBV cedo na infância e limitar o número de portadores crônicos nas populações endêmicas (Petersen et al., 2004). O objetivo primário da vacinação consiste em prevenir a infecção crônica, suas seqüelas e o estado de portador. O objetivo secundário é evitar a infecção aguda por hepatite B (Tregnaghi et al.; 2005). A vacina da hepatite B é a primeira dirigida para uma doença causadora de câncer, como também é a primeira vacina direcionada à prevenção de uma doença sexualmente transmissível.

Faz parte do Programa Nacional de Imunizações, estando disponível gratuitamente para toda a população de até 19 anos de idade, bem como para indivíduos maiores de 19 anos que, por motivo de seus hábitos ou ocupações, tenham maior probabilidade de se infectar pelo vírus da hepatite B (HBV), tais como profissionais de saúde, usuários de drogas endovenosas, profissionais do sexo, etc. (Lopes, 2006).

As vacinas disponíveis são seguras e efetivas, tendo 95% de eficácia na prevenção do desenvolvimento da infecção crônica, como resultado da aplicação do esquema completo de três doses simples em crianças (10 µg/dose) e adultos (20 µg/dose) saudáveis.

Desde 1991, a Organização Mundial de Saúde recomenda a incorporação de vacinas HBV nos programas de imunização. No ano de 2002, um total de 154 países tinha essa vacina incorporada nos seus calendários oficiais (Tregnaghi et al.; 2005). O Brasil, a introduziu no seu calendário em 1998 (Ropero et al, 2005).

1.6.1. Vacinas de primeira geração

Na década de 80, surgiram as vacinas derivadas de plasma, chamadas, posteriormente, de vacinas de primeira geração. Foi Krugman, em 1971, quem publicou os resultados de uma vacina obtida após a ebulição, durante um minuto, do soro de pacientes infectados por HBV, que, uma vez aplicado, levava ao surgimento de anticorpos protetores em crianças suscetíveis que não desenvolviam a infecção. Pesquisas subseqüentes resultaram na obtenção de vacinas purificadas a partir do plasma de portadores crônicos de HBsAg, denominadas, por essa razão, vacinas plasmáticas ou de primeira geração. Essas vacinas de primeira geração ou plasmáticas eram preparadas a partir do plasma de portadores assintomáticos de HBsAg, com conteúdo escasso ou nulo de vírions completos e, portanto, sem risco de provocar infecção.

As vacinas plasmáticas mostraram sua eficácia em diferentes grupos populacionais. Distintos estudos em homossexuais masculinos demonstraram o surgimento de anti-HBs em 85% dos vacinados com três doses. Nos profissionais da saúde, as vacinas plasmáticas também

apresentaram excelentes resultados. Em contrapartida, pior resposta à vacinação foi identificada em pessoas imunocompetentes devido a fatores como: idade avançada, obesidade, tabagismo e administração intraglútea.

Em pessoas com deficiências imunológicas, como as hemodialisadas, as vacinas plasmáticas demonstraram, em geral, ser menos imunogênicas do que na população sadia, tanto na proporção de indivíduos que desenvolviam anti-HBs quanto nos títulos atingidos.

1.6.2. Vacinas de segunda geração

A aplicação da biologia molecular e das técnicas de recombinação genética permitiu modificar muitos aspectos da produção e da qualidade das vacinas atuais. A vacina contra a hepatite B atualmente disponível foi, sem dúvida, a primeira grande vacina obtida desse modo. As técnicas de recombinação genética do DNA permitiram expressar o HBsAg do HBV em diversos tipos de células, entre as quais cabe destacar a levedura comum (*Saccharomyces cerevisiae*). A recombinação do gene, que codifica o HBsAg nessas células, permite obter partículas de HBsAg quase idênticas às encontradas no plasma dos indivíduos infectados. Às vantagens estritamente tecnológicas das vacinas por recombinação da levedura comum soma-se o fato da levedura ser um microorganismo ingerido diariamente como componente do pão ou da cerveja. Dessa forma, quase toda a população está exposta a esse antígeno, o que torna muito remota a possibilidade de reações anafiláticas após a administração da vacina.

1.6.3. Vacinas de terceira geração

O conhecimento preciso da seqüência de aminoácidos do principal polipeptídeo estrutural da cobertura do HBV e das porções de moléculas que atuam como dominantes antigênicos abriu a possibilidade teórica de se conseguir sintetizar *in vitro* peptídeos com seqüências de aminoácidos idênticos às seqüências de nucleotídeos do gene S. Na prática, entretanto, esse tipo de vacina de terceira geração encontrou obstáculos, principalmente, por ser escassa a capacidade de imunização desses peptídeos sintéticos, que precisariam de proteínas transportadoras capazes de provocar maior estímulo antigênico.

1.6.4. Vacinas disponíveis na América Latina

As vacinas disponíveis na América Latina são as obtidas por recombinação genética. Comercialmente, existem vários tipos de vacinas e todas contêm HBsAg obtido e purificado por tecnologia de DNA recombinante em leveduras (*S. cerevisiae*, por exemplo), nas quais se insere o gene responsável pela síntese do HBsAg. Contêm, como adjuvante, hidróxido de alumínio e, como conservante, timerosal. Devem ser conservadas entre +2°C e +8°C, sem congelar, pois, nesse caso, perdem seu poder imunogênico e devem ser descartadas. A validade é de três anos sob essas condições de conservação (Tregnaghi et al.; 2005).

No Brasil, recentemente, o Instituto Butantan passou a produzir a vacina recombinante da Hepatite B. É o segundo produto recombinante desenvolvido no país (o primeiro produto foi a insulina recombinante humana). A vacina foi desenvolvida no Centro de Biotecnologia, em parceria com a Divisão Bioindustrial, por pesquisadores russos e pesquisadores do Butantan.

1.6.5. Duração da proteção da vacina da hepatite B

A duração da proteção da vacina da hepatite B não foi ainda claramente estabelecida. Parece haver duração prolongada de 10 a 12 anos para crianças de alto risco, cujas mães eram positivas para o HBsAg e o HBeAg. Entretanto, a duração da proteção para crianças de baixo risco, cujas mães eram negativas para HBsAg e que receberam vacinação ao nascimento, é desconhecida.

Nessas duas populações, o risco da infecção pelo HBV aumenta durante a adolescência e o início da vida adulta, primariamente, devido ao risco de transmissão sexual.

Levanta-se a possibilidade, portanto, de haver necessidade de doses adicionais (“boosters”), eventualmente, para estender a proteção até a vida adulta. Em se tratando de pacientes imunocomprometidos, nos quais se sabe que a resposta vacinal é inferior, poder-se-ia cogitar, portanto, a aplicação de mais doses adicionais futuras no calendário vacinal, a fim de garantir proteção adequada.

Estudo recente realizado por Petersen e colaboradores mostrou que, em crianças de baixo risco, que inicialmente receberam doses da vacina recombinante, houve manutenção de títulos protetores cinco anos depois em apenas 12,5% e, sete anos depois do esquema, nenhum paciente em estudo demonstrou a manutenção desses títulos. Dessas crianças que não obtiveram resposta, 90% e 91%, respectivamente, responderam a uma dose “booster” da vacina.

Outros estudos mostraram resultados divergentes. West e colaboradores avaliaram crianças aos 12 anos de idade que receberam a vacina derivada de plasma na infância e verificaram que todos os pacientes apresentaram anti-HBs > 10 mUI/mL. Faustini e colegas também acompanharam crianças de baixo risco, mas cujo esquema inicial foi com a vacina recombinante. Aos cinco anos de idade, 93% apresentaram títulos de anti-HBs > 10 mUI/mL.

A maior diferença entre as crianças do primeiro estudo e desses últimos é que o esquema vacinal do primeiro foi aplicado ao nascer, enquanto os outros autores avaliaram crianças cujos esquemas foram realizados aos dois a três meses de idade ou mais velhas.

A maturação gradual do sistema imunológico após o nascimento sugere que a resposta ao HBsAg (anti-HBs) sofre influência da idade.

Um grupo de recém-nascidos (RN) e outro de crianças entre três e oito anos receberam os esquemas para a hepatite B e foram acompanhados ao longo dos anos. Um total de 93,3% dos RN desenvolveu títulos maiores que

10 mUI/mL um mês após a última dose, comparados com 97,2% das crianças do outro grupo ($p < 0,05$).

Durante o acompanhamento ao longo dos anos, uma proporção maior de crianças manteve altos títulos com um, dois, cinco e oito anos de seguimento pós-vacinal, quando comparadas aos recém-nascidos.

Este estudo mostrou, ainda, que a resposta humoral à vacina da hepatite B foi melhor em crianças vacinadas em quatro anos e meio e cinco anos (Lee et al.; 2003).

A avaliação da resposta vacinal cinco anos após a aplicação da vacina da hepatite B, em um grupo italiano, mostrou que em 92,9% das crianças (vacinadas ao nascer) e 94,1% dos adolescentes (vacinados aos 11 anos de idade) houve persistência de títulos protetores. Idade mais velha na aplicação do esquema foi associada com títulos mais altos. O peso ao nascimento não demonstrou associação com títulos de anti-HBs (Faustini et al., 2001).

Isso sugere que, talvez, iniciar o esquema vacinal mais tardiamente possa resultar em persistência mais duradoura dos títulos de anti-HBs. Entretanto, adotar essa estratégia mais tardia de vacinação não iria conferir proteção às crianças filhas de mães HBsAg positivas contra a transmissão perinatal do HBV. Além disso, o nível de anticorpos pode não predizer a efetividade da resposta à vacinação.

No que tange ao ritmo do declínio da concentração de anticorpos, Williams e colaboradores avaliou a resposta ao “booster” em dois grupos diferentes: o grupo 1 recebeu a vacina recombinante e o grupo dois recebeu

a vacina derivada de plasma. A dose “booster” foi aplicada nos grupos cinco e nove anos após o esquema inicial, respectivamente.

Avaliou-se a dosagem do anti-HBs antes da dose “booster”. No grupo 1, 41% dos pacientes apresentaram concentrações protetoras de anticorpos, enquanto 39% das crianças do grupo 2 tinham a mesma proteção.

Uma avaliação das crianças após a dose “booster” indicou que 95% delas, com ou sem persistência do nível de anticorpos na ocasião, mostraram uma resposta protetora.

Um ano após a dose “booster”, houve declínio da concentração de anticorpos em ambos os grupos, sendo de 26 vezes e 11 vezes nos grupos 1 e 2, respectivamente.

Apesar de a formulação da vacina, a dose e o esquema utilizado, possivelmente, influenciarem diretamente no pico da concentração de anticorpos após a primeira série vacinal, o ritmo de declínio parece ser independente desses fatores e ser maior seis meses após o término dos esquemas (Williams et al., 2003).

1.7. Imunização no paciente com HIV

A necessidade de imunização contra o vírus da hepatite B nos pacientes com HIV é apoiada por diversos fatores:

- 1) Atualmente, é possível que populações de alto risco se exponham ao HIV antes de desenvolverem imunidade específica ao vírus B;

- 2) Há perda acelerada do anti-HBs nos indivíduos com HIV que tiveram soroconversão espontânea;
- 3) Existe um risco aumentado de os co-infectados se tornarem portadores crônicos do vírus B.

Entretanto, esquemas habituais de três doses foram associados com baixa soroconversão no contexto da infecção pelo HIV, com apenas 23,8% a 56% de respondedores em adultos e 35% a 45% em crianças, comparados com mais de 90% em indivíduos saudáveis (Rey et al., 2000). Esse padrão de resposta é diretamente relacionado à contagem de linfócitos CD4, tendo um padrão de soroconversão de 70% nos indivíduos com CD4 superior a 500 células/mm³.

Atualmente, recomenda-se a quarta imunização (0, 1, 6 e 12 meses) e a duplicação da dose, com avaliação sorológica após vacinação, um mês após o término do esquema (Ministério da Saúde. Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais, 2006).

Uma quarta dose aumentou a proporção de respondedores de 45% para 85%, no estudo de Scolfaro, enquanto que, no estudo de Keet, o incremento foi mínimo (de 28% a 31%), mas a concentração final de anticorpos anti-HBs foi significativamente maior após a terceira dose.

Uma menor soroconversão para a vacina da hepatite B já foi demonstrada em pacientes HIV-positivos após três ou quatro doses, sem diferenças entre os vários fatores de risco para infecção pelo HIV. Esses estudos usaram tanto a vacina derivada do plasma quanto a vacina recombinante. (Keet et al.; 1992. Tayal et al.; 1994. Collier et al.; 1998).

Rey avaliou adultos e observou que após três doses da vacina, a soroconversão foi de 55%, sendo menor em pacientes com CD4 entre 200 e 500. Após esquema adicional de três doses, a resposta foi de 90%.

1.7.1. Memória imunológica

A resposta imune celular T pode ser dividida em Th1 (“T helper 1”) e Th2 (“T helper 2”), com base na secreção de citocinas que as células estimuladas vão apresentar. As células Th1 produzem IL-2 e INF- γ , e as Th2 produzem IL-4, IL-5, IL-6 e TL-10.

Em geral, as células Th1 influenciam a resposta imune celular mediada, enquanto as células Th2 determinam a resposta de células B com produção de anticorpos (Hsu et al., 1996).

Estudos mostram que o número de linfócitos B de memória capazes de produzir anti-HBs não se reduz ao longo do tempo, como acontece com os títulos de anticorpos. Os títulos de anti-HBs sofrem queda rápida no primeiro ano e mais lenta posteriormente. Pacientes vacinados que desenvolveram títulos altos irão, naturalmente, manter anticorpos por um período maior que os que apresentaram títulos iniciais pós-vacinação mais baixos.

Crianças saudáveis vacinadas responderam à última dose da vacina de hepatite B com aumento secundário nos títulos de anticorpos (resposta anamnésica). Esse fato reflete a memória imunológica residente nos linfócitos B de memória sensibilizados a uma exposição inicial antigênica, o que mantém a capacidade de rápida proliferação, diferenciação e produção

de anticorpos específicos como resultado de subsequente encontro com o mesmo antígeno.

Especialmente na hepatite B, a dose “booster” tem demonstrado aumento significativo de anticorpos, em poucos dias, em pacientes previamente vacinados. Como a infecção pelo HBV tem um período de incubação de várias semanas a alguns meses, a estimulação das células de memória pelos vírus levaria a uma produção de anticorpos rápida o suficiente para prevenir ou atenuar a infecção.

A exposição ao antígeno através da dose “booster” e o conseqüente aumento de títulos de anticorpos sugerem que essa dose adicional não seria, na realidade, necessária à manutenção da proteção.

Mais de 96% das crianças saudáveis e adultos jovens apresentam soroconversão após esquema habitual de três doses vacinais. Ao contrário, em vários estudos em adultos imunocomprometidos infectados pelo HIV, apenas 40% a 53% dos vacinados desenvolvem anticorpos. Tem-se observado, também, redução da resposta à vacina da hepatite B em pacientes com insuficiência renal crônica, diabetes tipo I, doença hepática avançada e câncer. Entre adultos saudáveis, fatores como idade avançada, sexo masculino, obesidade e tabagismo aumentam o risco de não-resposta.

Na criança infectada pelo HIV, ao lado das alterações da imunidade celular, representadas pela diminuição progressiva dos linfócitos CD4, que é determinada não só pela lise resultante da multiplicação viral, mas também por outros mecanismos, como a formação de sincícios e o desencadeamento de citotoxicidade celular dependente de anticorpos e

apoptose, observam-se, precocemente, anormalidades da função imune humoral. Além destas, também se observam defeitos funcionais das células B: ocorre uma ativação policlonal intensa, manifestada por hipergamaglobulinemia de uma ou de todas as classes de imunoglobulinas (Lane et al., 1983). A maior parte desses anticorpos reage contra os antígenos do envelope viral (Shirai et al., 1992). Apesar dos níveis elevados de imunoglobulinas, acredita-se que tais anticorpos ou parte deles não sejam funcionais, pois, quase todas as crianças sintomáticas, infectadas pelo HIV, apresentam elevada predisposição a infecções bacterianas recorrentes e graves. A ativação policlonal dos linfócitos B tem sido descrita tanto como resultado da própria infecção pelo HIV, através do resíduo carboxil terminal da glicoproteína viral, gp41, como por outros vírus, Epstein-Barr e citomegalovírus (Chirmule et al., 1990; Pahwa et al., 1986).

Borkowsky et al. (1992) desenharam um protocolo de investigação para analisar a resposta imune humoral e a mediada por células, nos primeiros quatro anos de vida, incluindo crianças infectadas pelo HIV e não infectadas. Todas receberam vacina contra difteria, tétano e pertússis aos dois, quatro, seis e dezoito meses de idade e forneceram amostras de sangue em intervalos de dois a seis meses, ao longo de dois anos de acompanhamento. Os resultados sugerem que a maioria das crianças com infecção pelo HIV teve resposta primária celular e humoral normal durante os primeiros dois anos de vida. O comprometimento dessas respostas aconteceu a seguir, ao longo dos próximos dois anos, entre dois e quatro anos de idade, quando, além de não sustentarem os níveis de anticorpos contra os toxóides tetânico

e diftérico, também perderam a capacidade de resposta linfoproliferativa, tornando-se menos capazes de responder a novos antígenos. Os autores ainda ponderaram que esses eventos poderiam ser explicados, em parte, pela redução dos níveis de células CD4, observada durante o segundo ano de vida; contudo, não houve diferença dos níveis dessas células, entre as crianças infectadas pelo HIV, com manutenção ou perda da capacidade de resposta.

A avaliação laboratorial rotineira pós-vacinação em populações de baixo risco e baixa possibilidade de exposição ao HBV iria ser cara e resultaria em pouca prevenção adicional.

Essas observações podem ser complementadas pela análise da ontogênese dos linfócitos com fenótipo de memória.

Hayward et al. (1989) descreveram que os recém-nascidos normais são desprovidos de células CD4 e CD8 que expressam UCHL1, um marcador de superfície que identifica as células de memória (cuja denominação atual é CD45R0) que alcançam 30% dos valores dos adultos ao redor de um ano de vida e níveis plenos na adolescência.

Borkowsky et al. (1992), analisando esse marcador em crianças infectadas e não infectadas pelo HIV, verificaram que seus níveis eram comparáveis durante o primeiro ano de vida. Entretanto, a população de células CD4 de memória, ou seja, que apresentavam CD45R0 na superfície, declinava, subseqüentemente, nas crianças infectadas pelo HIV, permanecendo em ascensão no grupo das crianças normais. Desse modo, é possível inferir que a resposta imune das crianças com infecção pelo HIV

pode, no início da vida, estar razoavelmente preservada, com bom potencial, sobretudo, nos primeiros dois anos de vida. A partir de então, ocorre a sua deterioração progressiva, inviabilizando uma resposta eficiente a antígenos novos, bem como a perda da capacidade de manutenção da que havia sido adquirida.

A ACIP recomenda a avaliação de todos aqueles cujo manejo clínico é dependente do conhecimento do estado imunológico (crianças filhas de mães HBsAg positivas, pacientes dialíticos, equipe profissional da área de saúde e pacientes HIV-positivos). Esses pacientes imunodeprimidos devem manter níveis mensuráveis de anticorpos, a fim de assegurar proteção adequada contra a hepatite B, diferentemente dos outros pacientes saudáveis. Além da ACIP, a “American College of Physicians” também recomenda a avaliação laboratorial de pacientes dialíticos com anti-HBs a cada seis a doze meses, assim como dose “booster” sempre que os títulos caiam abaixo de 10 mUI/mL.

Para crianças imunocompetentes que receberam esquema vacinal ao nascer, estuda-se a possibilidade de uma dose “booster” adicional ou doses subseqüentes ao longo da vida, com intervalos regulares (p. ex, a cada 10 anos).

Uma dose adicional pode ser considerada aos quatro a seis anos, com outros reforços vacinais, ou aos 11 ou 12 anos de idade, se estudos complementares verificarem que a memória imunológica nas crianças vacinadas persiste até a adolescência. Nesse contexto, surgiu a possibilidade de desenvolvimento de uma vacina combinada com HBsAg e

doses de reforço da difteria e do tétano. Entretanto, posteriormente, outros autores observaram que a aplicação simultânea das vacinas para difteria e tétano (DT) sugeriu ser um fator de risco para títulos baixos de anticorpos. A associação com a pólio também estabelece uma correspondência com baixos títulos de anti-HBs (Shepard et al., 2006).

Um estudo realizado por Hsu e colaboradores avaliou três grupos distintos de pacientes quanto à resposta ao antígeno da hepatite B após três doses de vacinas:

- Grupo 1 – Onze crianças HBsAg positivas que deixaram de desenvolver anti-HBs;
- Grupo 2 – Cinco crianças HBsAg positivas que desenvolveram anti-HBs;
- Grupo 3 – Cinco crianças que foram negativas para todos os marcadores do vírus da hepatite B.

Subseqüentemente, cada paciente dos três grupos recebeu uma dose adicional da vacina, para avaliação da imunidade e da proliferação das células mononucleares no sangue periférico ao HBsAg. Observou-se proliferação celular em resposta ao HBsAg em um de oito (12,5%), em zero de cinco (0%) e em quatro de cinco (80%) dos casos em grupo, respectivamente, após vacinação.

Comparando-se a resposta das células mononucleares periféricas após dose “booster”, verificou-se que os pacientes do grupo 2 produziram significativamente menos interferon gama (IFN- γ) e mais IL-4 em resposta ao HBsAg após vacinação, uma citocina que não foi observada no grupo 1.

Os autores concluíram que as causas da pobre resposta anti-HBs no grupo 1 são multifatoriais, incluindo falha específica na representação do antígeno, ou ativação celular T, ou ausência de respostas Th2 ao HBsAg.

1.7.2. Resposta vacinal das crianças filhas de mães HIV-positivas

Há poucos dados disponíveis sobre a resposta, a longo prazo, de imunizações nas crianças filhas de mães com HIV.

Foram estudadas, por Zuin e colaboradores, 18 crianças infectadas pelo vírus HIV e 33 crianças filhas de mães HIV-positivas que não obtiveram soroconversão para o HIV. Dentre as HIV-positivas, 22% não desenvolveram anticorpos protetores (anti-HBs > 10 mUI/mL), comparadas com 3% das crianças do segundo grupo ($p < 0,05$). Ambos os grupos tinham completado esquema de vacinação com Engerix B[®] – dose de 20 µg.

Nas crianças HIV-positivas, a probabilidade de os títulos de anti-HBs persistirem acima dos níveis protetores também foi significativamente menor durante um seguimento de 24 meses. Além disso, constataram-se títulos maiores no grupo de crianças que não soroconverteu para o HIV.

Quando as crianças infectadas foram classificadas de acordo com o estágio da doença, 14% das crianças assintomáticas e 50% das sintomáticas não mostraram níveis de anti-HBs protetores após esquema completo.

Dois anos após a imunização, apenas 25% das crianças HIV-positivas tinham anticorpos protetores, em comparação com 93% das crianças soronegativas ($p < 0,001$).

A magnitude da resposta de anticorpos de dois a quatro meses após o esquema vacinal não foi influenciada pelos níveis de CD4 e CD19.

Após dose “booster” nos não-respondedores, a maioria das crianças HIV-positivas mostrou níveis de anticorpos mais baixos que o grupo de crianças que sororeverteu.

Em outro estudo realizado por Zuccotti e colaboradores, 18 crianças filhas de mães HIV-positivas foram vacinadas ao nascer para hepatite B. A soroconversão para o vírus da hepatite ocorreu nas 13 crianças em que houve sororreversão para o vírus HIV. Em contrapartida, apenas uma das infectadas pelo HIV soroconverteu para o vírus da hepatite B. Houve evolução rápida para AIDS nas quatro crianças que não obtiveram resposta para a vacinação da hepatite. O esquema vacinal foi realizado com Engerix B[®] – dose de 20 µg.

Uma rápida queda nos níveis de anticorpos para hepatite B é observada quando há uma resposta presente nas crianças infectadas pelo HIV. Parece já haver um dano imunológico ao nascer, embora não detectável pelos exames imunológicos.

1.7.3. Resposta à vacina da hepatite B em HIV-positivos

A fraca resposta à vacina contra o HBV é uma preocupação em crianças com alto risco de exposição ao vírus. Imunodeprimidos, incluindo aqueles com HIV, estão mais propensos à reativação de uma infecção latente, assim como são de alto risco para o desenvolvimento de complicações, entre as quais, cirrose e carcinoma hepatocelular. Além disso, pacientes HIV-positivos com infecção pelo HBV podem ter rápida progressão para o desenvolvimento da AIDS.

A resposta imune ao HBsAg é uma resposta célula T dependente. Uma possível falha na apresentação e/ou estimulação das células “T helper” foi descrita como possível razão para a ausência de resposta de anticorpos ao HBV em adultos normais. Portanto, não deve causar surpresa que crianças HIV-positivas com AIDS e linfopenia de células “T helper” tenham resposta de anticorpos precária ao esquema vacinal da hepatite B e doses adicionais.

Em pacientes HIV-positivos, a pobre resposta à vacina contra a hepatite B pode ser um indicador de pior prognóstico. Houve relato de progressão da infecção pelo HIV em 83% dos pacientes que não tiveram resposta vacinal, em comparação com 11% dos HIV-positivos que responderam à vacina em um acompanhamento por dois anos (Shepard et al.; 2006).

Algumas estratégias têm sido usadas na tentativa de obtenção de mais altos níveis de anticorpos pós-vacinação e maior porcentagem de soroconversão, entre elas, o uso de doses em dobro ou adicionais para os

pacientes imunocomprometidos não-respondedores ao esquema habitual inicial.

Em estudo realizado por Choudhury e colaboradores, em 1995, entre 18 crianças que não responderam ao esquema habitual da hepatite B, uma foi a óbito, uma se mudou e 16 receberam dose “booster”. Todas estavam em uso da Terapia Anti-retroviral (TARV). Nenhuma recebeu imunoglobulina intravenosa. A dose “booster” foi aplicada, em média, cinco meses após o término do esquema habitual de três doses.

Foi dosado o anti-HBs em 14 das 16 crianças, após o “booster”. Apenas duas (14%) desenvolveram títulos protetores. Os respondedores eram significativamente mais jovens e tinham títulos maiores absolutos de CD4.

Das 12 crianças que não desenvolveram títulos protetores após a dose “booster”, sete receberam uma segunda dose “booster”, um a três meses após a primeira. Nenhuma obteve resposta (títulos protetores) após esse segundo “booster”.

Das seis crianças respondedoras, o seguimento com dosagem de anti-HBs após esquema vacinal, realizado, em média, 10 meses depois, mostrou que quatro ainda apresentavam títulos protetores.

Em estudo realizado por Fonseca e colegas em pacientes adultos no Brasil, a vacina contra hepatite B foi administrada a pacientes HIV-positivos, usando-se, para um grupo, doses simples e, para outro, doses duplas. Os pacientes que receberam a dose em dobro da vacina recombinante contra hepatite B apresentaram taxa de soroconversão (47%) significativamente maior que os pacientes que receberam a dose habitual de 20 µg (34%). Os

pacientes com contagem de CD4=350 células/mm³ apresentaram taxa de soroconversão significativamente maior (64%).

Preconiza-se, no Brasil, o uso de quatro doses da vacina contra hepatite B, com o dobro da dose habitual para a idade, para todos os pacientes infectados pelo HIV, tanto adultos quanto crianças. O melhor momento para iniciar a vacinação é imediatamente após o diagnóstico da infecção pelo HIV, se a condição imunológica do paciente assim permitir. Entretanto, para pacientes com contagem de células CD4 inferior a 200, preconiza-se a introdução de terapêutica anti-retroviral e a vacinação após ter ocorrido reconstituição imunológica.

Às pessoas que não soroconvertem com o esquema de quatro doses com o dobro da dose oferece-se novo esquema semelhante. Se, após essas oito doses, não ocorrer reconversão, a pessoa será considerada não-respondedora.

Outro aspecto importante diz respeito à ativação imune e replicação do HIV decorrente do estímulo vacinal. A replicação eficiente do HIV em linfócitos T CD4 e monócitos depende de ativação celular. A ativação dos linfócitos T CD4 e monócitos macrófagos que ocorre como parte da resposta imunológica à vacinação tem potencial para aumentar a replicação do HIV. Aumentos transitórios na viremia plasmática foram documentados após vacinação com toxóide tetânico, vacina contra influenza e vacina polissacarídica contra pneumococo. Outras investigações, entretanto, não evidenciam alterações da viremia plasmática ou da contagem de células T CD4 após vacinação (Lopes, 2006).

Em 1998, Glesby chamou a atenção para o fato de que os estudos que mostravam incremento da carga viral do HIV após vacinação foram, em sua maioria, realizados na época em que somente eram disponíveis os medicamentos análogos de nucleosídeos para tratar a infecção pelo HIV. Atualmente, nos pacientes tratados com terapêutica anti-retroviral de alta potência, reconhece-se que o aumento transitório da viremia plasmática, pós-vacinação, não tem importância clínica e não é contra-indicação para imunização (Lopes, 2006).

1.8. Uso de adjuvantes – uma proposta futura

Adjuvantes aumentam a resposta imunológica antígeno-específica pela localização física, bem como pela apresentação do antígeno e pela indução da resposta imune inata ou indução da resposta inflamatória.

Oligodeoxynucleotídeos sintéticos (ODN) contendo CPG (um estimulador do sistema imunológico) são potentes estimulantes da resposta imune inata que agem como agonistas para o receptor “Toll-like 9” (TLR9) e induzem potente resposta T “helper” 1 quando administrados com uma grande variedade de antígenos, incluindo HbsAg, em camundongos e primatas.

A eficácia pré-clínica do CPG ODN em uma situação de imunossupressão já foi demonstrada através de aumento da resposta imune humoral à Engerix B® em macacos “Rhesus” infectados pelo vírus da imunodeficiência.

Ensaio clínico com CPG 7909 demonstraram que esse adjuvante é seguro e bem tolerado em voluntários adultos saudáveis, quando administrado com vacina contra influenza e HBV. Neste último caso, a adição de CPG 7909 à Engerix B[®] estimulou títulos mais altos e precoces do anti-HBs, comparando-se com controles que usaram Engerix B[®] isolada.

Estudo (fase Ib/IIa, randômico, controlado, duplo-cego) realizado por Cooper e colaboradores reportou a segurança e eficácia do CPG 7909 como adjuvante da Engerix B[®], em pacientes adultos HIV-positivos .

Os títulos de anti-HBs foram significativamente maiores em vacinados que receberam CPG 7909 em todas as avaliações laboratoriais após a segunda dose. Títulos >10 mUI/mL nas semanas seis, oito e doze foram encontrados em 89%, 89% e 100% dos casos que receberam o CPG 7909, comparados com 53%, 42% e 63% nos controles, respectivamente (p=0,029, 0,005 e 0,008).

Outros novos adjuvantes, que incluem Monofosforil Lipídeo A (MPL), Thymopentin, AM3 (Imunoforon) e Levamisole, têm sido testados com vacinas para HBV em populações hiporrespondedoras. Em comparação a esses adjuvantes, CPG 7909 atingiu resultados superiores em tempo para soroconversão e soroproteção, títulos absolutos de anti-HBs alcançados e duração da resposta.

A adição do CPG 7909 à Engerix B[®] resultou em aumento de resposta imune celular específica – HBsAg, como foi mensurado pela proliferação de linfócitos (Cooper et al.;2005).

Sasaki e colaboradores estudaram o fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) como adjuvante na resposta da vacina da hepatite B em pacientes adultos HIV positivos. Eles receberam doses duplas da vacina recombinante nos meses 0,1 e 6 e foram randomizados para receber também 20µg de GM-CSF ou placebo, concomitante à primeira dose da vacina. Houve aumento significativo na taxa de soroconversão após a segunda dose da vacina no grupo que recebeu GM-CSF(62% GM-CSF x 30% no grupo controle $p < 0.0074$).

Após avaliação do que acabamos de expor, consideramos que a vacinação para a prevenção da hepatite B é um campo ainda em estudo amplo, principalmente no tangente aos esquemas e doses ideais para garantir a proteção do paciente imunocomprometido.

Sendo assim, pela escassez de trabalhos existentes na literatura, principalmente na área pediátrica e fundamentalmente no nosso meio, fomos motivados à realização deste estudo.

2. OBJETIVOS

2.1. Gerais

- ❖ Estudar a resposta sorológica das crianças HIV-positivas com relação à vacinação para hepatite B, após esquema de três doses duplas (20µg/dose) vacinais.

- ❖ Estudar a resposta sorológica ao “booster” com vacina da hepatite B em crianças HIV-positivas previamente vacinadas com três doses duplas, que não apresentaram títulos protetores.

2.2. Específicos

- ❖ Estudar a associação dos níveis de CD4 e carga viral, no momento do “booster”, em crianças vacinadas previamente com esquema de três doses.

- ❖ Estudar a relação do intervalo de tempo entre a primovacinação e a primeira avaliação sorológica com a presença de títulos protetores e a relação do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e o “booster” com a presença de títulos protetores.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. População em estudo

A população estudada é constituída por crianças matriculadas no ambulatório de infectologia do Instituto da Criança, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), com infecção comprovada pelo vírus HIV. Desta população de 187 crianças matriculadas na época de realização do trabalho, 144 pais ou responsáveis legais assinaram o termo de consentimento livre esclarecido para participação na pesquisa. Entretanto, apenas 70 crianças concluíram as coletas adequadamente e foram incluídas no estudo. A idade das 70 crianças incluídas teve média de 10,6 anos, mediana de 10 anos. A distribuição por sexo é de 40 (57,1%) para o sexo feminino e 30 (42,8%) para o sexo masculino.

Para classificação de categorias imunológicas dos pacientes, considerou-se o número absoluto de CD4 para pacientes maiores que seis anos e o número relativo para pacientes menores de seis anos. Os níveis de corte adotados foram os presentes no Guia de Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV em Pediatria do Ministério da Saúde, conforme quadro que se segue.

Quadro 1**Categorias imunológicas da classificação da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes menores de 13 anos**

Alteração Imunológica	Contagem de LT-CD4+		
	Idade		
	< 12 meses	1 a 5 anos	6 a 12 anos
Ausente (1)	> 1 500 (> 25%)	≥ 1 000 ≥ (25%)	≥ 500 ≥ (25%)
Moderada (2)	750 - 1 499 (15-24%)	500 - 999 (15-24%)	200 - 499 (15-24%)
Grave (3)	< 750 (<15%)	< 500 (<15%)	< 200 (<15%)

Fonte: Brasil. Ministério da Saúde. *Guia de Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV em Pediatria*. Brasília: Ministério da Saúde; 2007.

3.2. Critério de inclusão

- ❖ Crianças vacinadas com esquema de três doses duplas (20µg/doses) para hepatite B, confirmado por documento hábil (cartão de vacinação), sendo maiores de 18 meses, com pesquisa de anticorpo anti-HIV positiva por teste imunoenzimático Elisa e confirmada por “Western Blot”.

3.3. Critérios de exclusão

- ❖ Crianças não expostas ao HIV ou expostas e menores de 18 meses de idade.

- ❖ Crianças não vacinadas para hepatite B.

- ❖ Crianças com anti-HBc positivo e/ou AgHBs positivo previamente à vacinação.

- ❖ Crianças que não possuíam a carteira de vacinação com os dados devidamente preenchidos.

- ❖ Crianças que não compareceram às consultas ambulatoriais no período do estudo.

3.4. Desenho do estudo

O presente trabalho é de um estudo prospectivo descritivo de uma coorte de 70 crianças com HIV do total de 187 matriculadas em seguimento no

ambulatório de Infectologia do Instituto da Criança HCFMUSP, no período de agosto de 2005 a novembro de 2006 (Figura 3).

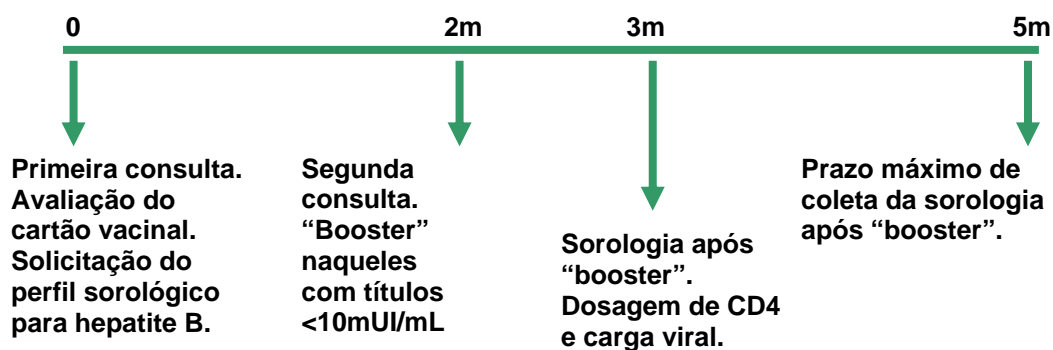


Figura 3 – Desenho do estudo

Em um primeiro momento, realizou-se a dosagem sorológica do anti-HBs dos pacientes que preencheram o critério de inclusão.

Em um segundo momento, nos pacientes que não apresentaram títulos de anti-HBs maiores que 10 mUI/mL , aplicou-se a dose "booster" da vacina, sendo utilizada a dose de $20\ \mu\text{g}$ (dose dupla), conforme orientação do Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais do Ministério da Saúde.

Realizou-se nova coleta de material para exame no intervalo de um a três meses após a quarta dose, bem como uma coleta com dosagem de anti-HBs, CD4 e carga viral.

3.5. Vacina utilizada

O esquema vacinal inicial havia sido realizado com três doses de Engerix B[®] (Glaxo - Smithkline) na dose dupla de 20 µg. A dose adicional (“booster”) foi aplicada no mínimo seis meses após a terceira dose do esquema de três doses, também com Engerix B[®] (Glaxo - Smithkline) na dose dupla de 20 µg, via intramuscular nos músculos deltóide ou vasto lateral da coxa.

3.6. Dosagens laboratoriais

3.6.1. Dosagem do anti-HBs

Realizou-se uma primeira dosagem através de teste imunoenzimático Elisa (sorologia quantitativa) no momento de ingresso do paciente ao estudo, independentemente do tempo decorrido depois da terceira dose vacinal, e uma segunda dosagem nos pacientes que receberam a dose “booster”, sendo esta efetuada no período de um a três meses depois.

O teste utilizado foi o AxSYM AUSAB[®] fabricado pelo laboratório Abbott. Trata-se de um imunoenensaio enzimático por micropartículas (MEIA), para a determinação quantitativa do anticorpo para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (anti-HBs) em soro ou plasma humanos. As amostras

com concentrações de anti-HBs menores que 10 mUI/mL são consideradas não reativas pelo ensaio AxSYM AUSAB[®]. As amostras com concentrações de anti-HBs maiores que 10 mUI/mL ou iguais a esse valor são consideradas reativas.

3.6.2. Dosagem da carga viral (quantificação do ácido ribonucléico – RNA – do HIV-1)

Utilizou-se a técnica Nasba (amplificação baseada na seqüência de ácidos nucléicos). O teste Nasba HIV-1 quantitativo é método baseado em quatro processos principais: liberação, isolamento, amplificação e detecção de ácidos nucléicos por reação de eletroquimioluminescência. Os resultados são expressos em número de cópias de vírus por mililitro de plasma e seu correspondente logarítmico na base 10.

3.6.3. Dosagem de linfócitos CD4/CD8

Para a dosagem de linfócitos CD4/CD8, utilizou-se sangue total heparinizado do paciente incubando-se anticorpo monoclonal anti-CD4 e anti-CD8 em tubos separados. Depois, as amostras foram colocadas para leitura em citômetro de fluxo. Os valores relativos foram obtidos em porcentagens da subpopulação de linfócitos e os valores absolutos, através do número total de linfócitos do hemograma.

3.7. Análise estatística

Os dados foram armazenados na planilha eletrônica Excel. Para a análise estatística usou-se o programa estatístico “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS), versão 13.0.

As comparações entre frequências foram feitas usando-se o teste de Fisher e as diferenças entre médias aplicando-se o Teste *t*. O nível de significância adotado em todas as análises foi 0,05.

3.8. Aspectos éticos

A execução deste estudo foi aprovada pela Comissão de Ética e Pesquisa do Departamento de Pediatria da FMUSP e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPESQ) do Hospital das Clínicas, FMUSP. Foram obtidos termos de consentimento livre esclarecido, assinados pelos pais ou responsáveis legais, de todos os pacientes incluídos.

4. RESULTADOS

Foram estudados os 70 pacientes que apresentaram dados completos na carteira de vacinação, relativos às datas das três doses da vacina da hepatite B e compareceram às coletas laboratoriais dentro do prazo previsto.

4.1. Resultados após primeira dosagem sorológica

4.1.1. Freqüência de títulos protetores

A maioria dos pacientes (50=71,4%) não apresentava títulos de anti-HBs > 10 mUI/mL no momento da primeira avaliação laboratorial. Apenas 20 (28,5%) dos pacientes tinham títulos protetores (Figura 4).

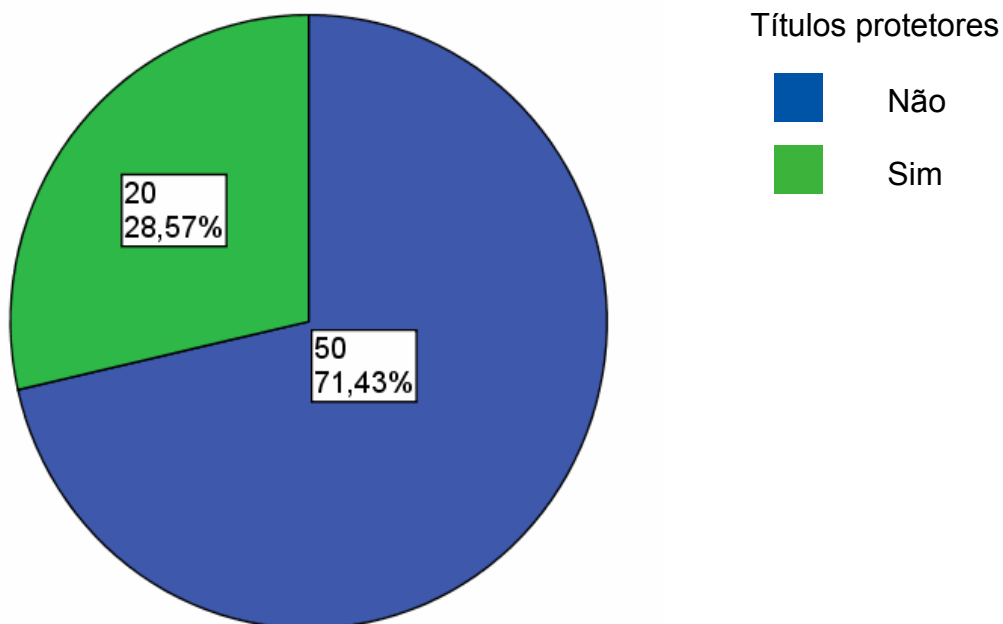


Figura 4 - Frequência de títulos protetores após esquema vacinal de três doses nas 70 crianças incluídas no estudo

4.1.2. Associação de títulos protetores e classificação clínico-imunológica

Com a finalidade de estudar a presença de associação entre a classificação clínico-imunológica e títulos protetores, dividiram-se os pacientes em dois grupos (Tabela 1). O grupo 1 abrangeu aqueles cuja classificação era N1, N2, N3, A1, A2 ou B1. O grupo 2 incluiu aqueles classificados como A3, B2, B3, C1, C2 ou C3. Esse agrupamento foi o mesmo utilizado por Marques (2000), separando os pacientes que apresentavam um grau leve a moderado de comprometimento clínico-imunológico (grupo 1) daqueles com comprometimento grave (grupo 2).

Tabela 1 – Distribuição das crianças com títulos protetores ou não pela classificação clínico-imunológica

		Classificação clínico- imunológica		
		Grupo 1*	Grupo 2**	Total
Títulos protetores	Não	7	43	50
		10,0%	61,4%	71,4%
	Sim	3	17	20
		4,3%	24,3%	28,6%
Total		10	60	70
		14,3%	85,7%	100%

*Grupo 1: N1, N2, N3, A1, A2, B1

**Grupo 2: A3, B2, B3, C1, C2, C3

A avaliação estatística feita com o teste de Fisher mostrou não haver diferença estatisticamente significativa na frequência de títulos protetores nos dois grupos ($p=0,591$).

4.1.3 Análise do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e a primeira dosagem sorológica (anti-HBs)

A média do intervalo de tempo decorrido entre a terceira dose da vacina e a dosagem sorológica nos pacientes que apresentaram títulos protetores foi de 53,8 meses, enquanto que, no grupo que não apresentou títulos protetores, foi de 74,0 meses. A diferença encontrada entre estas médias nos dois grupos foi estatisticamente significativa (Teste t - $p=0,007$) (Figura 5).

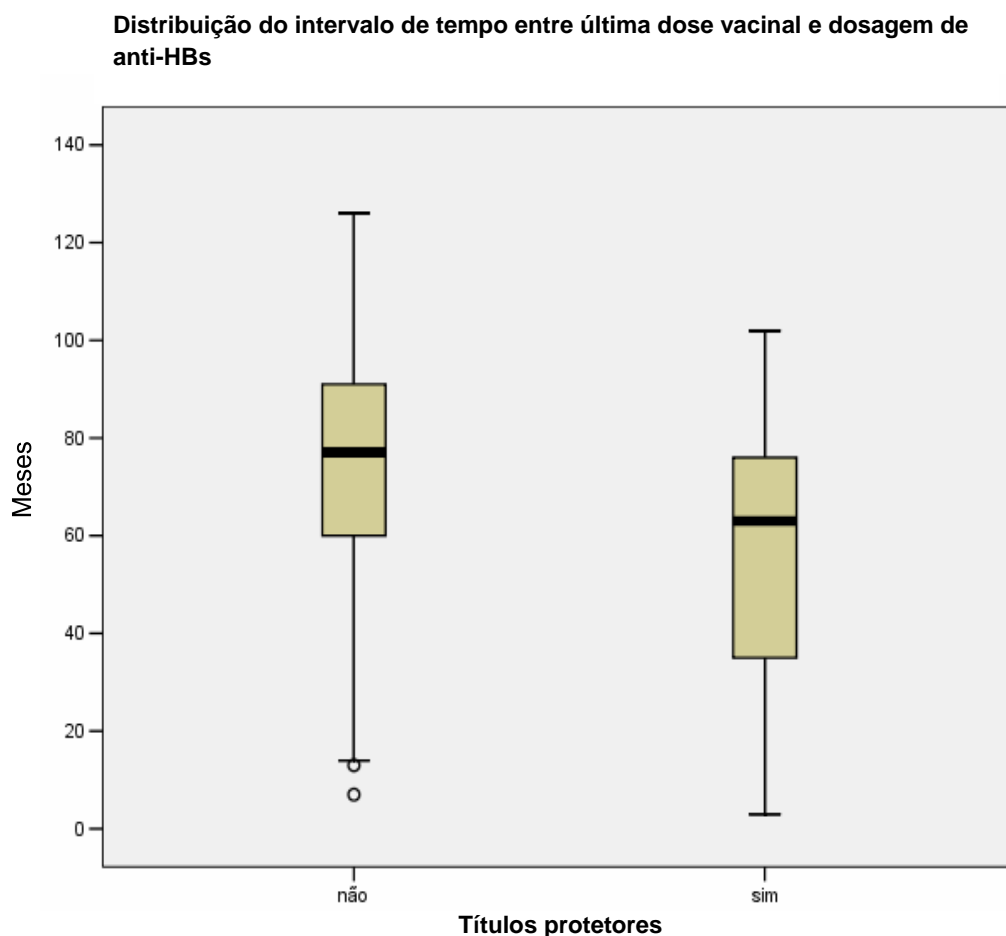


Figura 5 - Distribuição do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e a primeira dosagem sorológica (anti-HBs) nas 70 crianças do estudo, conforme a presença de títulos protetores ou não.

4.2. Resultados após segunda dosagem sorológica

4.2.1. Frequência de títulos protetores

A frequência de títulos não protetores após dose “booster” nos pacientes que não apresentaram títulos maiores que 10 mUI/mL na primeira avaliação foi de (34/50) 68%, enquanto apenas (16/50) 32% apresentaram sorologia considerada protetora após “booster” (Figura 6).

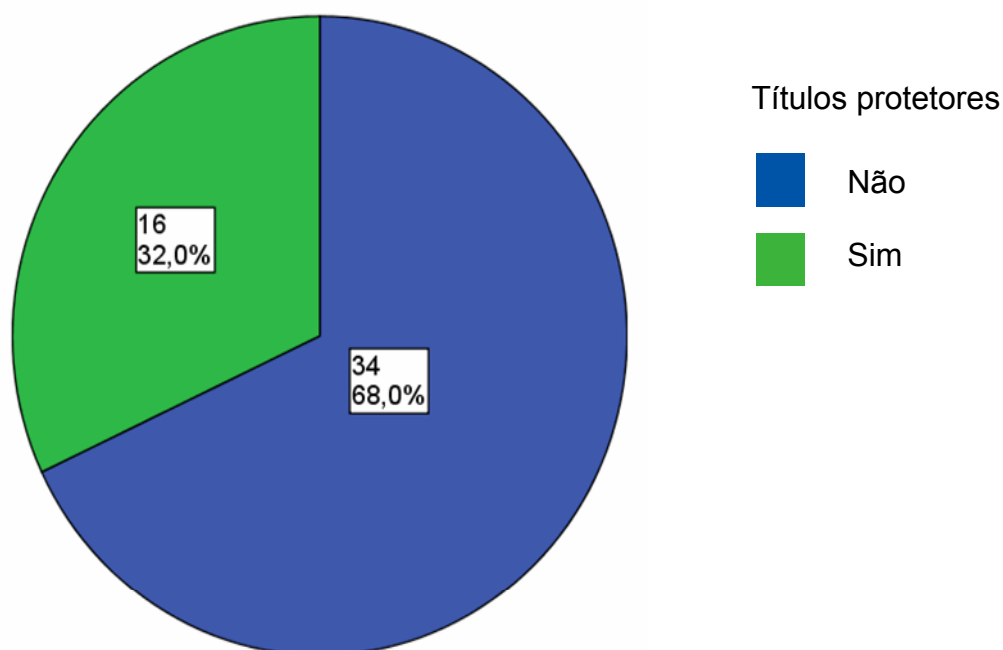


Figura 6 - Frequência de títulos protetores após “booster” nas 50 crianças sem títulos protetores após esquema vacinal de três doses

4.2.2 Associação entre imunodepressão e títulos protetores após “booster”.

Com a finalidade de avaliar a associação entre imunodepressão e presença de títulos protetores após “booster”, os 50 pacientes foram divididos em dois grupos conforme o CD4: um primeiro grupo com os pacientes que apresentavam imunodepressão leve e um segundo grupo com os pacientes com imunodepressão moderada ou grave.

Para classificação de categorias imunológicas de pacientes, considerou-se o número absoluto de CD4 para pacientes maiores que seis anos e o número relativo para pacientes menores de seis anos. Os níveis de corte adotados foram os presentes no Guia de Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV em Pediatria do Ministério da Saúde, vide quadro 1.

Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre a intensidade de imunodepressão e a presença de títulos protetores após “booster” (Fisher $p=0,074$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição das 50 crianças com e sem títulos protetores após “booster” conforme imunodepressão

		Títulos protetores após “booster”		Total
		Não	Sim	
Imunodepressão	Leve	23 46,0%	15 30,0%	38 76,0%
	Moderada/ Grave	11 22,0%	1 2,0%	12 24,0%
	Total	34 68,0%	16 32,0%	50 100%

4.2.3. Associação entre carga viral e títulos protetores após “booster”

Para estudar a associação entre presença de títulos protetores após “booster” e carga viral dos pacientes, os mesmos foram separados em dois grupos: pacientes que apresentaram carga viral baixa (indetectável ou $\log < 3$) em um grupo e pacientes com carga viral alta ($\log \geq 3$) no segundo grupo (Tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição das 50 crianças com e sem títulos protetores após “booster” conforme a carga viral

		Títulos protetores após “booster”		Total
		Não	Sim	
Carga viral	Indetectável ou log < 3	4	4	8
		8,0%	8,0%	16,0%
	Log ≥ 3	30	12	42
		60,0%	24,0%	84,0%
Total		34	16	50
		68,0%	32,0%	100%

Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre aquisição de títulos protetores e carga viral (baixa e alta) (Fisher $p=0,215$).

4.2.4 Análise do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e o “booster”

A distribuição do intervalo de tempo decorrido entre a terceira dose e o “booster”, entre os que soroconverteram ou não, está apresentada na figura que se segue (Figura 7).

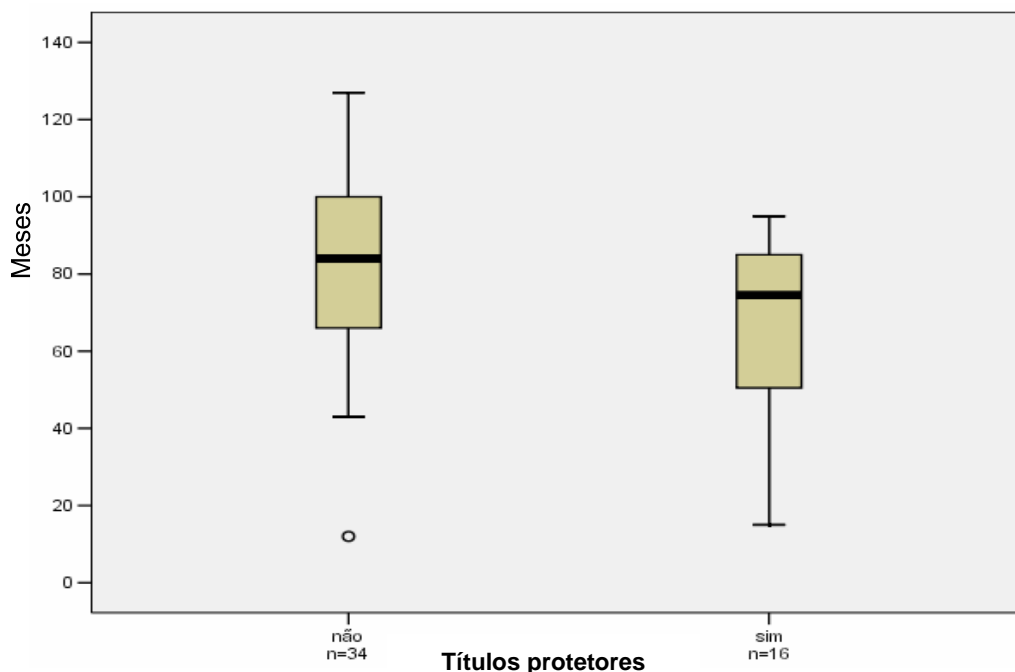
Distribuição de tempo entre 3ª dose e “booster” X soroconversão

Figura 7 – Distribuição do intervalo de tempo entre a terceira dose vacinal e o “booster” nas 50 crianças sem títulos protetores após esquema vacinal de três doses

A média de tempo decorrido entre a terceira e quarta dose da vacina nos pacientes que responderam ao “booster” foi de 66,6 meses e naqueles que não responderam foi de 80,9 meses. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre estas médias (Teste t - $p=0,066$).

5. DISCUSSÃO

Embora a vacinação contra o vírus da hepatite B (HBV) seja um sucesso, há, ainda, um percentual de 5% a 10% de indivíduos que não apresenta uma resposta adequada com níveis de anticorpos protetores anti-HBs. Entre as causas que contribuem para essa falha à resposta vacinal está a predisposição genética. Nos pacientes imunodeprimidos, a falha primária à vacina é ainda maior. As taxas de soroconversão aos esquemas com doses simples variam de 24% a 56%, comparadas com taxas maiores, de 90%, em imunocompetentes (Overton et al., 2005).

Faz-se necessária a distinção entre os verdadeiros não-respondedores (depois de adequada imunização) e os que apresentam queda de títulos de anti-HBs ao longo do tempo.

Estima-se que 13% a 60% dos pacientes que responderam inicialmente ao esquema vacinal podem perder os títulos de anti-HBs detectáveis nos anos subseqüentes (Sjogren, 2005).

Dados sugerem que pacientes imunocompetentes que apresentam queda de títulos ao longo do tempo mantêm memória imunológica que pode proteger esses indivíduos contra a infecção aguda pelo HBV ou pode prevenir a infecção crônica pelo HBV por cerca de 10 anos após a imunização. Há descrição de casos na Ásia e no Alasca de infecção crônica pelo HBV 15 anos após a imunização em indivíduos que tinham títulos muito baixos de anti-HBs (Sjogren, 2005). Portanto, não-respondedores ou aqueles com queda de títulos ao longo do tempo podem estar em risco de

aquisição da infecção pelo HBV nos anos seguintes, podendo ser necessária uma dose “booster”, principalmente, em pacientes de área endêmica.

Para diagnosticar corretamente os não-respondedores, o CDC aconselha a dosagem de títulos anti-HBs um a seis meses após a última dose de um esquema completo de imunização. Não-respondedores são definidos como os indivíduos que possuem anti-HBs $<10\text{mUI/mL}$ (10UI/L). Hiporrespondedores são definidos como aqueles com títulos ≥ 10 e $\leq 99\text{mUI/mL}$. Hiporrespondedores tendem a apresentar menor duração de títulos anti-HBs detectáveis, em comparação com os que apresentam títulos $>100\text{mUI/mL}$ após a imunização pelo HBV.

É possível se fazer a distinção entre queda de títulos e não-respondedores quando a resposta logo após a imunização é desconhecida. Sugere-se uma dose “booster” adicional da vacina nesses casos. O grau de resposta do anti-HBs quatro a 12 semanas após a dose “booster” irá diferenciar os dois padrões de resposta de anticorpos. Verdadeiros não-respondedores não irão apresentar títulos de anti-HBs ou esse aumento será muito baixo, enquanto que aqueles cuja queda de títulos ocorreu ao longo do tempo irão apresentar um aumento de títulos, geralmente, $\geq 10\text{mUI/mL}$ após a dose “booster” (Sjogren et al., 2005).

Na presente casuística, estudou-se a resposta vacinal de crianças HIV-positivas. Observou-se, em uma primeira avaliação do grupo de 70 crianças incluídas na análise, uma frequência de apenas 28,57% de títulos de anti-HBs $\geq 10\text{mUI/mL}$ após três doses vacinais com $20\mu\text{g}$. Sendo assim, a maioria

(71,4%) dos pacientes não apresentava títulos protetores para o vírus da hepatite B no momento da análise laboratorial inicial.

Essa observação não permitiu diferenciar, nesse momento, os pacientes não-respondedores à primovacinação daqueles cujos títulos caíram no decorrer dos anos, como já se descreveu. Estudou-se ainda nesse momento a possibilidade da presença de associação entre a classificação clínico-imunológica dos pacientes e a presença de títulos protetores, o que não se mostrou estatisticamente significativo ($p = 0,591$).

Encontrou-se significância estatística ($p = 0,007$) quando foi analisada a distribuição do intervalo de tempo entre a última dose vacinal e a primeira dosagem sorológica, conforme a presença de títulos protetores ou não. A média do intervalo de tempo entre a terceira dose da vacina e a dosagem sorológica nos pacientes que apresentaram títulos protetores foi de 53,8 meses, enquanto a média de tempo no grupo que não apresentou títulos protetores foi de 74 meses.

A literatura aponta tendência à baixa resposta vacinal à vacina da hepatite B em crianças HIV-positivas, embora haja escassez de trabalhos nessa faixa etária.

Zuin et al. (1992) avaliaram a resposta com dosagem de anticorpos para a hepatite B em 18 crianças infectadas pelo HIV, comparando-as com 33 crianças filhas de mães HIV-positivas. Das crianças infectadas, 78% mostraram títulos protetores de anti-HBs dois a quatro meses após a última dose (em esquema de 3 doses com $20\mu\text{g}$), enquanto 97% das crianças filhas de mães HIV-positivas mostraram proteção. A idade e a contagem de

CD4 não interferiram na magnitude da resposta. A persistência de títulos protetores foi menor que em crianças saudáveis, com uma queda de 77,8% para 23,1% em dois anos em HIV-positivos, enquanto que no grupo de crianças filhas de mães HIV- positivas os títulos se mantiveram em 90%.

Diamant e colegas estudaram um grupo de 24 crianças infectadas, sendo que seis (25%) desenvolveram títulos protetores dois a quatro meses após a última dose (em esquema de 3 doses com 10 μ g), enquanto a maioria, 18 (75%), tinha títulos baixos. Eles observaram que a média de CD4 normal em não-respondedores foi significativamente menor que nos respondedores, inicialmente (25% X 52% p=0,014) e dois a quatro meses após a terceira dose (20% X 54% p=0,005).

Nos trabalhos citados, tanto em esquemas de 3 doses com 10 μ g/dose, quanto em esquemas de 3 doses com 20 μ g/dose, a soroconversão das crianças HIV-positivas foi baixa. Os resultados foram contraditórios quando se tentou associar os baixos títulos com a contagem de CD4. Além da baixa soroconversão com a utilização desses esquemas de 3 doses, destacou-se a tendência ao declínio mais rápido dos títulos de anticorpos em crianças HIV-positivas, dado que também se observou na casuística do presente trabalho.

Um estudo mais recente (2006) realizado na Tailândia por Siriaksorn e colaboradores com base no esquema vacinal de três doses, porém sem descrição sobre dosagem simples (10 μ g) ou dupla (20 μ g) utilizada, mostrou que, mesmo após a introdução da Highly active antiretroviral therapy (HAART) em crianças HIV-positivas que apresentaram reconstituição imune,

a baixa prevalência de títulos protetores para o HBV (1% apenas) se manteve.

O grupo italiano formado por Zanetti e colaboradores estudou, em 2005, crianças saudáveis que receberam as três doses da vacina com 10µg durante a infância (esquema de 3,5 e 11 meses de idade) e demonstrou claramente que os títulos de anti-HBs se mantiveram acima do índice considerado protetor em 64% da população avaliada 10 anos após a imunização. Esse trabalho reforçou a idéia de que, em crianças saudáveis, não há necessidade de avaliar a soroproteção com dosagem de anti-HBs, nem de dose “booster” por um período prolongado.

Entretanto, em crianças imunodeprimidas, o comportamento em relação à vacina não é o mesmo. A diferença entre a persistência de títulos protetores para o vírus da hepatite B em crianças HIV-positivas pode ser explicada tanto pela baixa soroconversão após a série primária (falha primária vacinal) ou pelo mais rápido declínio de anticorpos neste grupo (falha secundária).

A resposta vacinal com doses adicionais da vacina da hepatite B em imunodeprimidos tem sido estudada, porém, ainda não está bem determinado o número de doses necessárias à manutenção de títulos protetores por período prolongado. A recomendação atual do Ministério da Saúde é o esquema de quatro doses da vacina, sendo cada uma delas com dose dupla de 20µg. Entretanto, essa norma é relativamente recente, sendo sua publicação de 2006.

Em uma segunda fase do presente estudo, foi de apenas 32% a frequência de soroconversão após “booster” nas 50 crianças que não apresentaram títulos protetores após a primeira avaliação sorológica.

Esses dados são semelhantes aos de Choudhury et al. (1995), quando observaram, em um grupo de 16 crianças HIV-positivas, uma frequência baixa de títulos protetores (14%) após “booster”. Os respondedores ao “booster” eram mais jovens e apresentavam contagem absoluta de CD4 maior que o grupo não respondedor. Do grupo de crianças que não responderam a esse reforço, sete receberam uma segunda dose adicional um a três meses após o primeiro “booster” e nenhum desses pacientes desenvolveu títulos protetores. Choudhury usou dose “booster” de 20µg, porém não ficou claro em seu estudo se o esquema de 3 doses foi com dose simples ou dupla.

Já um trabalho tailandês mais recente (Lao-Araya, 2007) avaliou a frequência de soroconversão em crianças HIV-positivas após a introdução da HAART, com segundo esquema vacinal de três doses com 10µg em um esquema de zero, dois e seis meses. Nesta casuística, a frequência de soroconversão com a revacinação chegou a 92% e a melhor resposta foi associada com cargas virais mais baixas. Também se observou maior contagem absoluta de CD4 nos respondedores, entretanto, sem significância estatística. A resposta após a primeira dose “booster”, com dose simples, foi de apenas 17,4%, sugerindo que uma única dose adicional nessas crianças é insuficiente.

Nos dados do nosso trabalho, não houve associação estatisticamente significativa entre contagem de CD4 e carga viral com a presença de títulos protetores após “booster”.

Estudou-se, ainda, o intervalo de tempo decorrido entre a terceira dose da vacina do esquema de três doses e a dose “booster”, com a intenção de observar a relação do tempo com a presença de títulos protetores. A média de tempo entre a terceira e a quarta doses nos pacientes que responderam ao “booster” foi de 66,6 meses, ao passo que a média de tempo entre a terceira e a quarta doses nos pacientes que não responderam ao “booster” foi de 80,9 meses. Apesar de não ter sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre as médias de tempo, observa-se uma tendência para menor resposta com maior tempo decorrido entre a terceira e a quarta doses. Possivelmente, com um número maior de pacientes incluídos em estudos futuros, essa tendência venha a ser confirmada.

O calendário vacinal ideal para pacientes HIV-positivos ainda é uma questão em debate. Estudo recente em adultos realizado por Fonseca e colaboradores comparou esquema primário com doses simples com esquema primário com doses duplas. O incremento nas doses resultou em maior resposta à vacina apenas nos pacientes com contagem de CD4 > 350 células/mm³ e baixa viremia do HIV. Overton e colegas também encontraram melhor resposta vacinal ao primeiro esquema quando ele foi administrado em pacientes adultos com cargas virais baixas (< 400 cópias/mL).

Rey e colaboradores testaram a hipótese de que, dobrando-se o número de doses simples da vacina em adultos, haveria um aumento de

resposta vacinal. Após o primeiro esquema, a resposta global foi de 55%, sendo maior (87,5%) nos pacientes com CD4 > 500. A taxa global de soroconversão após o segundo esquema foi de 90%. Em contrapartida, Vries-Sluijs e colegas testaram também em adultos um segundo esquema com dose dupla e obtiveram eficácia de 50,7%, estando a melhor resposta associada às baixas cargas virais no momento da revacinação. Dessa forma, o estado imunológico do paciente parece ser o maior fator contribuinte para a boa resposta à vacina da hepatite B.

Há escassez de trabalhos na faixa etária pediátrica, porém, recente publicação de grupo tailandês liderado por Lao-Araya evidenciou que crianças HIV-positivas com reconstituição imune após a HAART são aptas a desenvolver altos títulos de anticorpos protetores ao vírus da hepatite B após revacinação com esquema de 3 doses simples (taxa de resposta de 92,1%), contribuindo para a hipótese de que, independentemente da faixa etária da população em estudo, o estado imunológico do paciente é o fator primordial para a boa resposta.

Diante do que acabamos de discutir, fica clara a necessidade de monitorização periódica dos títulos de anti-HBs nas crianças HIV-positivas. Sugere-se estabelecer um acompanhamento laboratorial, em média a cada 5 anos, devido ao declínio de títulos de anti-HBs em crianças HIV-positivas conforme reafirmado neste estudo.

Ainda permanecem questões a serem elucidadas.

Quantas doses (simples ou duplas?) são necessárias à manutenção de uma boa proteção nas crianças HIV-positivas?

6. CONCLUSÕES

- ❖ A maioria dos pacientes deste estudo com primovacinação com três doses duplas não apresentava títulos protetores para o vírus da hepatite B no momento da análise laboratorial inicial.
- ❖ A presença de títulos protetores não foi associada com a condição clínico-imunológica.
- ❖ O estudo do intervalo de tempo entre a última dose da primovacinação e a feitura da sorologia sugere haver uma tendência à queda de títulos protetores (anti-HBs) ao longo do tempo.
- ❖ Após a dose dupla do “booster”, ainda se manteve uma predominância de não-resposta sorológica ou resposta com títulos não protetores à vacina da hepatite B nas crianças com HIV.
- ❖ Os dados deste estudo não mostraram associação entre níveis de CD4 e carga viral com resposta à dose “booster”.
- ❖ Não foi observada significância estatística na relação entre o intervalo de tempo da primovacinação e o “booster” e a resposta com títulos

protetores após “booster”, mas aparentemente há uma tendência à menor resposta quando este reforço é realizado mais tardiamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araujo ESA. Co-infection HIV – HCV: mutual interactions. In: II Fórum Brasileiro de AIDS; São Paulo; fev 2004. *Jornal Brasileiro de AIDS*. São Paulo: JBA; 2004;5(6): 250-3.

Banatvala JE, Van Damme P. Hepatitis B vaccine – do we need boosters? *J Viral Hepatitis*. 2003;10:1-6.

Borkowsky W, Steele CJ, Grubman S, Moore T, La Russa P, Krasinski K. Antibody responses to bacterial toxoids in children with human immunodeficiency virus. *J. Pediatr*, vol 110, 563-6, 1987.

Borkowsky W, Moore T, Krasinski K, Ajuang-Simbini KO, Holzman R. Evolution of phenotypic memory T cells in HIV-1 infected infants and children. *Clin Immunol. Immunopathol.*, vol 63, p280-4, 1992a.

Borkowsky W, Rigaud M, Krasinski K, Moore T, Lawrence R, Pollack H. Cell-mediated and humoral responses in children with human immunodeficiency virus during the first four years of life. *J. Pediatr.*, vol 120, p 371-5, 1992b.

Centers for disease control and prevention (CDC), 2005.

Chirmule N , Kalyanaraman V S, Saxinger C. Localization of B-cell stimulatory activity of HIV-1 to the carboxyl terminus of the gp41. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, vol 6, p. 299-305, 1990.

Choudhury SA, Peters VB. Responses to hepatitis B vaccine boosters in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 1995;Jan:14(1):65-7.

Collier AC, Corey L, Murphy VL, Handsfield H. Antibody to human immunodeficiency virus (HIV) and suboptimal response to hepatitis B vaccination. *Ann Intern Med* 1988; 109: 101-5.

Cooper CL, Davis HL, Angel JB, Morris ML, Elfer SM, Seguin I, Krieg AM, Cameron W. CPG 7909 adjuvant improves hepatitis B virus vaccine seroprotection in antiretroviral-treated HIV-infected adults. *AIDS*. 2005;19(4):1473-9.

Da Villa G, Peluso F, Picciotto L, Bencivenga M, Elia S, Pellicia MG. Persistence of anti-HBs in children vaccinated against viral hepatitis B in the first year of life: follow-up at 5 and 10 years. *Vaccine*. 1996;14(16):1503-5.

De Vries-Sluijs EMS, Hansen BE, Van Doornum JJ, Springeling T, Evertsz NM, De Man RA, Van Der Ende ME. A prospective open study of the efficacy

of high-dose recombinant hepatitis B rechallenge vaccination in HIV-infected patients. *J Infect Dis.* 2008;197:292-4.

Diamant EP, Schechter C, Hodes DS, Peters VB. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J.* 1993;Oct:12(10):877-8.

Duval B, Boulianne N, De Serres G, De Wals P, Massé R, Trudeau G. Preadolescent non- and hyporesponders following three doses of hepatitis B vaccine need only one more dose. *Vaccine.* 2002;20(31-2):3632-4.

Farhat CK, Carvalho ES, Weckx LY, Carvalho LHFR, Succi RCM. *Imunizações: fundamentos e prática.* 4a ed. São Paulo: Atheneu; 2000.

Faustini A, Franco E, Sangalli M, Spadea T, Calabrese RM, Caletti M, Perucci CA. Persistence of anti-HBs 5 years after the introduction of routine infant and adolescent vaccination in Italy. *Vaccine.* 2001;Apr:19(20-22):2812-8.

Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases.* 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2004.

Fonseca MO, Pang LW, Cavalheiro NP, Barone AA, Lopes MH. Randomized trial of recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected adult patients comparing a standard dose to a double dose. *Vaccine*. 2005;(23):2902-8.

Glesby MJ. Immunizations during HIV infection. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1998;11:17-21.

Hayward AR, Lee J, Beverley PCL. Ontogeny of expression of UCHL 1 antigen on TCR-1 (CD4/8) and TCR T cells. *Eur.J.Immunol.*, vol 19, p771-3.1989.

Hsu H-Y, Chang M-H, Hsieh R-P, Ni Y-H, Chi W-K. Humoral and cellular immune responses to hepatitis B vaccination in hepatitis B surface antigen – carrier children who cleared serum – hepatitis B surface antigen. *Hepatol*. Dec 1996:1355-60.

Keet IPM, van Doornum G, Safary A, Coutinho RA. Insufficient response to hepatitis B vaccination in HIV-positive homosexual men. *AIDS* 1992;6: 509-10.

Lane HC, Masur, H, Edgar LC, Whalen G, Rook AH, Fauci AS. Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N.Engl. J.Med*, v.309,p 453-8, 1983.

Lao-Araya M, Puthanakit T, Aурpibul L, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Antibody response to hepatitis B re-vaccination in HIV-infected children with immune recovery on highly active antiretroviral therapy. *Vaccine*. 2007;25:5324-9.

Lee SS, Wong KH, Young BW. Children's age affects hepatitis B vaccine response. *Gastroenterol Hepatol*. 2003;Jun:18(6):750-1.

Lopes MH. Imunização em pacientes com HIV/AIDS [editorial]. *Jornal Brasileiro de AIDS*. São Paulo. Fev. 2006;(Ed esp 1):23-4.

Marques HHS. *Avaliação qualitativa e quantitativa dos anticorpos de crianças com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2000.

Ministério da Saúde. *Guia de Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV em Pediatria*. Brasília, Brasil: Ministério da Saúde; 2007.

Ministério da Saúde. *Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais*. Brasília, Brasil: Ministério da Saúde; 2006.

Ocama P, Opio CK, Lee WM. Hepatitis B virus infection: current status. *Am J Med*. 2005;118:1413-22.

Ota MOC, Vekemans J, Schlegel-Haueter SE, Fielding K, Whittle H et al. Hepatitis B immunisation induces higher antibody and memory Th2 responses in new-borns than in adults. *Vaccine*. 2004;(22):511-9.

Overton ET, Sungkanupaugh S, Pooderly WG, Seyfried W, Groger RK. Undetectable plasma HIV RNA load predicts success after hepatitis B vaccination in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1045-8.

Pahwa S, Fikrig S, Monez R, Pahwa R. Pediatric acquired immunodeficiency syndrome: demonstration of B lymphocyte defects in vitro. *Diagn. Immunol*. Vol 4, p24-30, 1986.

Petersen KM, Bulkow LR, McMahon BJ, Zanis C, Getty M, Peters H, Parkinson AJ. Duration of hepatitis B immunity in low risk children receiving hepatitis B vaccinations from birth. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;Jul:23(7):650-5.

Plotkin SA, Orenstein WA. *Vaccines*. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 2004.

Rey D, Krantz V, Partisani M, Schmitt MP, Meyer P et al. Increasing the number of hepatitis B vaccine infections augments anti-HBs response rate in HIV-infected patients. *Vaccine*. 2000;Jan 18;18(13):1161-5.

Ropero AM, Danovaro-Holliday MC, Andrus JK. Progress in vaccination against hepatitis B in the Americas. *J Clin Virology*. 2005;34(Suppl 2):514-9.

Sasaki MG, Foccacia R, Messias-Reason IJ. Efficacy of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM – CSF) as a vaccine adjuvant for hepatitis virus in patients with HIV-infection. *Vaccine*. 2003;21:4545-9.

Sato HK, Aquino MZ, Marques HHS, Contin D, Costa IC, Ito RK, Vallada PR, Sabino E, Sato NN, Lambert J. Avaliação da imunogenicidade da vacina contra hepatite B em crianças infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana. In: Congresso de Infectologia Pediátrica; Salvador; 2002.

Scolfaro C, Fiammengo P, Balbo L, Madon E, Tovo PA. Hepatitis B vaccination in HIV-1 infected children: double efficacy doubling the paediatric dose. *AIDS* 1996; 10:1169-70.

Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev*. Atlanta, Jun 2006;28:112-25.

Shirai A, Cosentino M, Leitman-klinman S F, Klinman DM. Human immunodeficiencyvirus infection induces both polyclonal and virus-specific B cell activation. *J. Clin. Invest.*, vol 89, p561-6,1992.

Siriaksorn S, Puthanakit T, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Prevalence of protective antibody against hepatitis B virus in HIV-infected children with

immune recovery after highly active antiretroviral therapy. *Vaccine*. 2006;(24):3095-9.

Sjogren MH. Prevention of hepatitis B in nonresponders to initial hepatitis B virus vaccination. *Am J Med*. 2005;(18):345-95.

Sousa, AQ. I Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B e Delta. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* São Paulo. Ago 2006;10(Supl 1):67.

Tayal SC, Sankar KN. Impaired response to recombinant hepatitis B vaccine in asymptomatic HIV-infected individuals. *AIDS*, 1994; 8:558-9.

Tregnaghi M W, Ceballos A. Manual de Vacinas da América Latina. Madrid, Espanha: Euro RSCG Life Esquema; 2005: 128-30.

Veiga APR, Casseb J, Duarte AJS. Humoral response to hepatitis B vaccination and its relationship with T CD45RA+ (naïve) and CD45RO+ (memory) subsets in HIV-1-infected subjects. *Vaccine*. 2006;24:7124-8.

Villa G, Peluso F, Piccioto L, Beneivenga M, Elia S, Pellicia MG. Persistence of anti-HBs in children vaccinated against viral hepatitis B in the first year of life: follow-up at 5 and 10 years. *Vaccine*. 1996;14(16):1503-5.

Watanaveeradej V, Samakoses R, Kerdpanieh A, Aree C, Nitayabhan S et al. Antibody response to hepatitis B vaccine in infants of HIV-positive mothers. *Int J Infect Dis.* 2002;6:240-1.

West DJ, Calandra GB. Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen: implications for policy on booster vaccination. *Vaccine.* 1996;14(11):1019-27.

World Health Organization (WHO), (2005). Weekly epidemiological record. No 28. vol 79. pg 253-264.

Williams IT, Goldstein ST, Tufa J, Tauillii S, Margoles HS, Mahoney FJ. Long term antibody response to hepatitis B vaccination beginning at birth and to subsequent booster vaccination. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;Feb:22(2):157-63.

Wilson CM, Ellenberg JH, Sawyer MK, Belzer M, Crowley-Nowick PA et al. Serologic response to hepatitis B vaccine in HIV-infected and high-risk HIV-uninfected adolescents in the REACH Cohort. *J Adol Health.* 2001;29:123-9.

Zanetti AR, Mariano A, Romano L, D'Amelio R, Chironna M et al. Long-term immunogenicity of hepatitis B vaccination and policy for booster: an Italian multicentre study. *The Lancet.* Oct 2005;(366):1379-84.

Zuccotti GV, Fiocchi A, Tordato G, Giovannini M. Hepatitis B vaccination in infants of mothers infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr*. Jul 1994;125(1):70-2.

Zuin G, Principi N, Tornaghi R, Paceagnini S, Re M, Massironi E, Rogni MC. Impaired response of hepatitis B vaccine in HIV-infected children. *Vaccine*. 1992;10(12):857-60.