

ROSEANE PÔRTO MEDEIROS

**Avaliação da imunogenicidade anti-HBV em
portadores crônicos do vírus da hepatite C não
cirróticos após exposição a dois esquemas de vacina
contra hepatite B**

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

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientador: Dr. Mário Guimarães Pessoa

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 01 de novembro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2021

ROSEANE PÔRTO MEDEIROS

**Avaliação da imunogenicidade anti-HBV em
portadores crônicos do vírus da hepatite C não
cirróticos após exposição a dois esquemas de vacina
contra hepatite B**

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

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientador: Dr. Mário Guimarães Pessoa

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 01 de novembro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Medeiros, Roseane Pôrto
Avaliação da imunogenicidade anti-HBV em portadores crônicos do vírus da hepatite C não cirróticos após exposição a dois esquemas de vacina contra hepatite B / Roseane Pôrto Medeiros. -- São Paulo, 2021.
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientador: Mário Guimarães Pessoa.

Descritores: 1.Imunogenicidade da vacina
2.Vacinas contra hepatite B 3.Hepatite C crônica
4.Pesquisa comparativa da efetividade 5.Imunização
6.Soroconversão

USP/FM/DBD-176/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

A Deus, por me conceder a oportunidade de ser filha de Zafira e Benedito Medeiros, e o convívio compartilhado e bem humorado com meus irmãos Ruy e Roselene P. Medeiros;

Ao meu leal primo, Floriano W.L. Medeiros
(*in memoriam*);

À amiga e madrinha, Maria do Carmo Guimarães Assunção, eternamente presente em minhas lembranças (*in memoriam*);

Às vítimas da Covid-19 e aos enlutados familiares, nossos sentimentos e respeito pelas perdas.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por emanar a sabedoria, tolerância e a paciência que me possibilitaram o retorno à vida acadêmica, concedendo-me a perseverança e a inteligência emocional nos momentos mais difíceis na realização deste trabalho.

Agradeço à minha querida família, presente em todos os momentos da minha vida acadêmica, reiterando os meus conceitos e princípios de vida, acreditando na minha capacidade de atingir metas e superar os obstáculos, apesar de todas e quaisquer adversidades cotidianas no decurso da jornada.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Mário Guimarães Pessoa, por estar presente nas horas mais importantes e me fazer crer na elegância deste estudo e na mudança de paradigmas, me iluminando com suas ideias e sempre me fazendo acreditar nas possibilidades.

Agradeço ao Prof Dr. Flair Carrilho, pelo acolhimento e apoio na realização de todas as etapas deste trabalho, me propiciando a reflexão contínua na trajetória da vida acadêmica.

“Somos o que repetidamente fazemos.
A excelência, portanto, não é um feito,
mas um hábito”.

Aristóteles, 384 a.C.- 322 a.C.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas e Gráficos

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Epidemiologia das hepatites B e C	2
1.2	Superinfecção com vírus A e B.....	5
1.3	Imunogenicidade Anti-HBV	10
1.4	Imunogenicidade da Vacina Butang	13
1.5	Hepatite C: perfil imunológico frente a vacinação anti-HBV	15
2	JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	18
3	OBJETIVOS.....	20
3.1	Objetivos Primários	21
3.2	Objetivos Secundários.....	21
4	DESENHO EXPERIMENTAL E MÉTODOS	22
4.1	Desenho do estudo	23
4.2	Tipo de estudo.....	23
4.3	População do estudo	23
4.4	Critérios de inclusão	25
4.5	Critérios de exclusão	26
4.6	Variáveis analisadas	26
4.7	Testes Laboratoriais	27
4.8	Randomização	27
4.9	Aspectos éticos.....	28
4.10	Análise estatística	28
5	RESULTADOS.....	30

5.1	Análise da resposta vacinal após a 4ª dose	39
5.2	Análises de intenção de tratamento (ITT)	40
5.3	Análises por protocolo (PP)	40
5.4	Análises de intenção de tratamento (ITT) ou por protocolo (PP) nos respondedores 6 meses após a segunda dose da vacina	41
5.5	Análise da resposta vacinal 6 meses após a vacina Anti-HBV nos VHC	42
6	DISCUSSÃO	43
6.1	Resposta do HCV positivo <i>versus</i> Controles	44
6.2	Fatores relacionados ao vírus.....	46
6.3	Fatores relacionados ao hospedeiro	47
6.4	Dose dobrada <i>versus</i> dose padrão.....	53
6.5	Eficácia da 4ª dose	55
6.6	Manutenção de títulos soroprotetores Anti-HBs.....	57
7	CONCLUSÕES	59
8	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	61
	REFERÊNCIAS	63
	ANEXOS.....	75

Lista de Abreviaturas e Siglas

AgHBc	Antígeno do core do vírus da hepatite B
AgHBe	Antígeno “e” do vírus da hepatite B
AgHBs	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
ALT	Alanina aminotransferase
anti-HBc total	Anticorpo contra o antígeno do capsídeo do vírus da hepatite B
anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
anti-VHA	Anticorpo contra o vírus da hepatite A
anti-VHB	Anticorpo contra o vírus da hepatite B
anti-VHC	Anticorpo contra o vírus da hepatite C
CDC	Centro de Controle de Doenças
DAA	Agentes antivirais de ação direta
DRC	Doença renal crônica
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HBV-DNA	Ácido desorribonucléico do vírus da Hepatite B
HCV-RNA	Ácido ribonucléico do vírus da hepatite C
HLA	Molécula do complexo de histocompatibilidade
IMC	Índice de massa corpórea
IST	Infecção sexualmente transmissível
ITT	Intenção de tratamento
MHC	Complexo de histocompatibilidade

OMS	Organização Mundial de Saúde
PP	Por protocolo
VHA	Vírus da hepatite A
VHB	Vírus da hepatite B
VHC	Vírus da hepatite C
MS	Ministério da Saúde
SIM	Sistema de informação de mortalidade
VrHB-IB	Vacina Butang

Lista de Figuras

- Figura 1. Prevalência VHA e VHB em portadores crônicos VHC.... 8**
- Figura 2. Estudo Prospectivo de Intervenção 31**

Lista de Tabelas e Gráficos

Tabela 1.	Características demográficas basais dos grupos do estudo – HCFMUSP/CRIE, 2020	32
Tabela 2.	Características demográfica-clínicas dos portadores de VHC crônicos – HCFMUSP/CRIE, 2020	33
Tabela 3.	Avaliação das características virais, histologia hepática, perfil clínico entre os 2 grupos de VHC crônicos – HCFMUSP/CRIE, 2020.....	34
Tabela 4.	Distribuição de soroproteção segundo o grupo vacinal – HCFMUSP/CRIE, 2020.....	35
Tabela 5.	Distribuição do perfil de resposta do estudo – HCFMUSP/ CRIE, 2020.....	36
Tabela 6.	REGRESSÃO UNIVARIADA – seleção das variáveis para o modelo múltiplo – HCFMUSP/CRIE, 2020	36
Tabela 7.	Regressão Logística Múltipla – HCFMUSP/CRIE, 2020	37
Tabela 8.	Características demográficas-virais dos VHC crônicos convocados para administrar a 4ª dose adicional – HCFMUSP/CRIE, 2020.....	39
Tabela 9.	Distribuição de soroproteção VHC segundo o grupo vacinal após a 4ª dose adicional – HCFMUSP/CRIE, 2020	40
Tabela 10.	Prevalência de soroconversão por grupo nas análises de Intenção de Tratamento (ITT) – HCFMUSP/CRIE, 2020	40
Tabela 11.	Prevalência de soroconversão por grupo nas análises Por Protocolo (PP) – HCFMUSP/CRIE, 2020.....	41

Tabela 12. Distribuição dos títulos soroprotetores de Anti-HBs (≥ 10 mUI/mL) por grupo, trinta dias após a última dose da vacina – HCFMUSP/CRIE, 2020.....	42
Tabela 13. Persistência dos títulos soroprotetores de Anti-HBs (≥ 10 mUI/mL) por grupo de VHC, seis meses após a última dose da vacina – HCFMUSP/CRIE, 2020	42
Gráfico 1. Distribuição de soroconversão após a terceira dose da vacina contra o VHB, conforme a idade	389
Gráfico 2. Distribuição de soroconversão após a terceira dose da vacina contra o VHB, conforme a raça	40
Gráfico 3. Distribuição de soroconversão após a terceira dose da vacina contra o VHB, conforme o genótipo.....	40

Medeiros RP. *Avaliação da imunogenicidade anti-HBV em portadores crônicos do vírus da hepatite C não cirróticos após exposição a dois esquemas de vacina contra hepatite B* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

RESUMO

Introdução: Alguns estudos de imunogenicidade da vacina anti-HBV em pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C (VHC) demonstraram resposta anti-HBs diminuída, variando de 63,6% a 72,9%, em comparação com 90,9% a 93,9% em controles sadios. **Objetivos:** Avaliar a resposta anti-HBs, com dose dupla comparando com a dose padrão da vacinação VHB e, em não respondedores administrar uma quarta dose de vacina (Butang[®], Instituto Butantã, São Paulo) em pacientes VHC crônicos virgens de tratamento sem cirrose. **Métodos:** 141 adultos com VHC crônico sem cirrose foram randomizados em 2 grupos: A (dose dupla: 40 µg aos 0, 1 e 6 meses) ou B (dose padrão: 20 µg aos 0, 1 e 6 meses) para receber vacinação contra o VHB. A resposta à vacinação foi medida por títulos de anti-HBs 1 mês após a última dose de vacina VHB. 70 controles sadios (grupo C) foram também avaliados (anticorpos negativos para anti-HCV, anti-HBc, AgHBs e anti-HBs) que receberam dose padrão (20 µg em intervalos de 0, 1 e 6 meses). A resposta de vacina (soroconversão) foi definida por anti-HBs ≥10 U/L. Pacientes VHC crônicos que não respondem à imunização primária receberam a quarta dose de vacina de acordo com o grupo que foram previamente randomizados. **Resultados:** 128 pacientes (60 dose dupla, 68 dose padrão) completaram o estudo, sem abandono devido a eventos adversos. Os pacientes que concluíram tinham idade mediana de 52 anos, 61% mulheres, 52% brancos, 60% fibrose <2 e 75% genótipo 1 com mediana HCV RNA de 6log10. A taxa global de soroconversão global foi de 76,7% (95% CI 65-87) na dose dupla e de 73,5% (95% CI 63-84) na dose-padrão e, em comparação, com 91,2% (95% IC 84-99) em controles sadios ($p=0,02$ e $0,008$, respectivamente). Entre os pacientes infectados com VHC, a soroconversão não foi significativamente diferente na dose dupla *versus* dose-padrão ($p = 0,69$). Entre os respondedores, a média de títulos anti-HBs na dose dupla e na dose padrão dos grupos vacinais não foram significativamente diferentes dos controles (205 vs 432 UI/ L, $p = 0,66$). No modelo de regressão logística avaliando a associação entre os grupos vacinais (dose dupla vs padrão) e a soroconversão anti-HBs, o esquema vacinal não foi um preditor independente de resposta (OR = 0,85, $p = 0,69$). Entre os 25 não respondedores, após a administração da quarta dose, 8 soroconverteram (IC95% 13,2-52,9) e as taxas de soroconversão para os grupos de dose dupla e dose padrão foram 45,5% (n=5, IC 95% CI 16-74,9) e 21,4% (n=3, IC 95% 0,0-42,9) respectivamente ($p = 0,19$). Na análise multivariada, após controle de possíveis fatores de confusão, incluindo idade, sexo, etnia e genótipo do VHC, apenas a idade avançada (OR = 0,93, $p = 0,0004$), etnia não branca (OR = 0,34, $p = 0,0245$) e genótipo 1 do VHC (vs outros) (OR = 0,14, $p = 0,0059$) estavam associados com uma menor probabilidade de resposta anti-HBs em pacientes infectados com VHC. A mediana de idade após a primeira dose da

vacina não mostrou diferença entre os pacientes que soroconverteram e os que falharam a imunização. **Conclusões:** Em pacientes infectados com VHC, sem cirrose, a resposta à vacinação contra o VHB é significativamente comprometida e esta resposta reduzida não pode ser superada pela utilização da dose dupla da vacina. Adicionar uma quarta dose da vacina para os não respondedores pode ser uma estratégia efetiva e justifica outros estudos. Outras medidas adjuvantes são necessárias para aperfeiçoar as taxas de soroconversão neste grupo de pacientes “altamente susceptíveis”.

Descritores: Imunogenicidade da vacina; Vacinas contra hepatite B; Hepatite C crônica; Pesquisa comparativa da efetividade; Imunização; Soroconversão.

Medeiros RP. *Evaluation of anti-HBV immunogenicity in chronic non-cirrhotic hepatitis C virus infected patients after exposure to two hepatitis B vaccine schedules* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

ABSTRACT

Background and Aims: Some immunogenicity studies of anti-HBV vaccine in patients with chronic HCV infection have demonstrated a diminished anti-HBs response ranging from 63.6% to 72.9%, compared to 90.9% to 93.9% in healthy controls. **Aims:** To evaluate the anti-HBs response to double compared to standard dose HBV vaccination and in non-responders to administer the fourth dose of vaccine (Butang®; “Butantã Institute”, São Paulo) in treatment naive chronic HCV patients without cirrhosis. **Methods:** 141 adults with chronic HCV without cirrhosis were randomized in 2 groups A (double dose: 40µg at 0, 1 and 6 months) or B (standard dose :20µg at 0, 1 and 6 months) to receive HBV vaccination. Response to vaccination was measured by titers of anti-HBs at 1 month after the last dose of HBV vaccine. 70 healthy controls (group C) were also evaluated (negative to anti-HCV, anti-HBc, HBsAg and anti-HBs antibodies) who received standard dosing (20µg at intervals of 0, 1 and 6 months). Vaccine response (seroconversion) was defined by anti-HBs ≥10 U/L. HCV chronic patients who did not respond to primary immunization received the fourth dose of vaccine according to the group that were previously randomized. **Results:** 128 patients (60 double dose, 68 standard dose) completed the study, with no dropouts due to adverse events. The patients who completed were of median age 52 years, 61% female, 52% white, 60% fibrosis <2, and 75% genotype 1 with median 6log₁₀ HCV RNA. The overall seroconversion rate was 76.7% (95% CI 65-87) in double dose and 73.5% (95% CI 63-84) in standard dose groups compared to 91.2% (95% CI 84-99) in non-HCV controls ($p=0.02$ and 0.008 , respectively). Among HCV infected patients, seroconversion were not significantly different in the double dose vs standard dose HBV vaccination regimen ($p=0.69$). Among responders, median anti-HBs titers in the double dose and standard dose vaccine groups were not significantly different from controls (205 vs 432 UI/L, $p=0.66$). In a logistic regression model evaluating the association between vaccine group (double dose vs standard dose) and anti-HBs seroconversion, vaccine regimen was not an independent predictor of response (OR=0.85, $p=0.69$). Among 25 HCV non responders after the administration of the fourth dose, 8 seroconverted (95%CI 13.2-52.9) and seroconversion rate for double and standard dose groups were 45.5% (n=5, 95% CI 16-74.9) and 21.4% (n=3, 95% CI. 0.0-42.9) respectively ($p=0.19$). In multivariate analysis, controlling for potential confounders including age, sex, ethnicity, and HCV genotype, only older age (OR=0.93, $p=0.0004$), non-white ethnicity (OR=0.34, $p=0.0245$), and HCV genotype 1 (vs others) (OR=0.14, $p=0.0059$) were associated with a decreased likelihood of anti-HBs response in HCV-infected patients. The median age after the first dose of the vaccine showed no difference between patients who seroconverted and failed to immunization. **Conclusions:** In HCV-infected patients without cirrhosis,

responses to HBV vaccination are significantly impaired and this reduced response cannot be overcome by the use of double dose HBV vaccination. Adding a fourth dose of vaccine for non-responders may be an effective strategy and warrants further study. Other adjuvant measures are needed to enhance seroconversion rates in this “high need” group of patients.

Descriptors: Vaccine immunogenicity; Hepatitis B vaccines; Chronic hepatitis C; Comparative effectiveness research; Immunization; Seroconversion.

Normatização adotada

Esta dissertação está de acordo com:

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

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

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

1.1 Epidemiologia das hepatites B e C

Segundo estimativas, 1% da população mundial está infectada com vírus da hepatite C (VHC), 71 milhões são portadores crônicos, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), e aproximadamente 300 milhões de pessoas estão infectadas com vírus da hepatite B (VHB)¹⁻³.

A hepatite C ocorre em uma larga proporção de todos os casos de evolução grave e progressiva da doença, sendo comumente causa de descompensação de função hepática com aparecimento de ascite, encefalopatia e sangramento digestivo⁴, como complicações de hipertensão portal ou ainda uma das principais causas de tumor primário de fígado, o carcinoma hepatocelular (CHC)⁵.

Segundo a OMS, até dois milhões de brasileiros podem estar infectados com a hepatite B e mais 4,5 milhões com a hepatite C. No período de 2001 a 2010, foram realizadas 853.571 admissões hospitalares no Brasil, atribuídas à doença hepática, correspondendo a 0,72% de todas as admissões no território nacional no mesmo período. Entretanto os dados específicos das possíveis causas destas internações hospitalares ainda são escassos⁶.

No Brasil, os dados do Ministério da Saúde (MS) demonstram que no período de 1999-2019 foram diagnosticados 253.307 casos de VHC, observando-se uma elevação na taxa de detecção em diferentes regiões. Muitos casos diagnosticados concentram-se na região Sudeste, seguidos pelas regiões Sul, Nordeste, Centro-Oeste, e Norte⁷.

Provavelmente este aumento do número de casos notificados em todo o território nacional, atribui-se a disponibilização na rede pública dos antivirais de ação direta (DAAs) para o tratamento da hepatite C, que ocorreu a partir de 2013, com a introdução do Boceprevir (Merck Sharp & Dohme) e Telaprevir (Janssen Cilag Farmacêutica LTDA). Na região Sudeste concentram-se as maiores proporções dos VHB e VHC, com 34,5% e 59,3% dos casos, respectivamente⁷.

Em regiões de elevada prevalência a hepatite B é transmitida pelas vias vertical e horizontal, porém nas áreas de intermediária e baixa endemicidade, em geral a disseminação ocorre pelas vias sexual ou parenteral⁸. De acordo com dados do MS no período compreendido entre 2000 e 2011, o Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) registrou 9.659 mortes relacionadas ao VHB⁹ e, cerca de 600 mil como portadores crônicos de VHB e, apenas 2% em tratamento, desta forma, representando um potencial segmento de transmissão do vírus, principalmente em áreas de baixa cobertura vacinal e, com pouca acessibilidade aos serviços de saúde⁹⁻¹⁰.

Segundo o Boletim Epidemiológico de Hepatitis Virais de 2020⁷:

A hepatite B é a segunda maior causa de óbitos entre as hepatites virais no Brasil. De 2000 a 2018, foram registrados 15.912 óbitos relacionados a esse agravo; desses, 54,5% tiveram a hepatite B como causa básica, em sua maior parte na região Sudeste (41,3% dos óbitos por causa básica). Em 2018, a região Norte foi a que apresentou o maior coeficiente de mortalidade em todo o período, com 0,4 óbito por 100 mil habitantes⁷.

Os VHB e VHC podem ser transmitidos por via parenteral, portanto não é incomum que um indivíduo infectado pelo VHC também apresente marcadores sorológicos para VHB¹¹. Evidências de estudos demonstram que

a interação entre VHB e VHC altera a resposta imunológica. Na coinfeção (VHB/VHC) há uma redução na atividade da DNA polimerase do VHB, configurando a supressão deste vírus pelo VHC¹². Recentemente tem sido sugerido que a coinfeção pelo VHB e VHC associa-se com maior gravidade de doença hepática do que a infecção causada apenas por um dos vírus¹¹⁻¹².

Além disso, a superinfecção do VHC em paciente com hepatite B crônica pode levar à soroconversão do AgHBe e AgHBs¹³. Sheen et al.¹⁴, por meio de um estudo longitudinal com expressivo número de pacientes com hepatite B crônica, demonstrou uma incidência anual de 2,08% de soroconversão do AgHBs nos pacientes coinfectados pelo VHC, comparados com 0,43% nos pacientes monoinfectados.

Cacciola et al.¹⁵ demonstraram que a infecção oculta pelo VHB, definida pela presença de HBV-DNA e ausência de antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) correlaciona-se com cirrose entre pessoas infectadas pelo VHC.

Em um estudo realizado no Japão com 2.014 portadores de VHC observou-se que a proporção de indivíduos com marcadores de VHB, aumenta a progressão da doença hepática. A prevalência de anti-HBc em pacientes com CHC, superior a 60%, foi significativamente mais alta quando comparada aos portadores de cirrose e hepatite crônica associada ao VHC¹⁶.

Em outro estudo realizado na população geral americana, observou-se que mais de 25% dos portadores de VHC tinham marcadores sorológicos de VHB e, que nesta população alvo o risco de aquisição do VHB é seis vezes mais elevado do que no grupo de indivíduos soronegativos para VHC¹⁷.

A prevalência da coinfeção VHB/VHC nas áreas endêmicas e em certos grupos de risco como usuários de drogas e politransfundidos é relativamente alta, e oscila entre 10 a 66%¹⁸. É importante salientar que com o surgimento dos DAAs, caracterizou-se a necessidade do conhecimento dos marcadores sorológicos da VHB nos portadores de VHC, com o intuito de evitar o curso fulminante desencadeado pela ativação da hepatite B, nestes hepatopatas durante o tratamento da hepatite C com esta nova classe farmacológica.

1.2 Superinfecção com vírus A e B

As hepatites A e B raramente são fatais em adultos saudáveis, mas podem causar falência hepática aguda e óbito em hepatopatas crônicos por VHC, particularmente nos idosos¹⁹. Recomenda-se que todos os adultos com VHC recebam vacinação contra hepatite A e B desde que não sejam previamente imunizados. Entretanto, as respostas vacinais para hepatites A e B são frequentemente inadequadas nos idosos e, teoricamente resultam em proteção subótima. Assim em pacientes idosos portadores de VHC devemos considerar o monitoramento pós vacinal para as hepatites A e B, devido à possibilidade de doses adicionais (*booster*) ou doses dobradas das vacinas terem demonstrado efetividade imunológica¹⁹.

Desde 1981 temos a disponibilidade da vacina para VHB e a partir de 1995 a imunização para a VHA. Estas vacinas são consideradas eficazes e imunogênicas nos indivíduos com doença hepática leve a moderada e, menos efetiva nas fases avançadas da doença e transplantados de fígado²⁰.

Nos levantamentos de revisão conduzidos por Keefe²¹ chama a atenção que estes portadores crônicos de VHC, quando comparados aos controles sadios em regimes de imunização para hepatite A, a capacidade de resposta vacinal é similar, ao passo que, quando imunizados para hepatite B, em diferentes doses e estratégias vacinais, há uma variabilidade na resposta vacinal que oscila entre 70% a 100%²¹. A taxa de soroconversão (Anti-HBs) é alta e corresponde de 93% a 100% em pacientes com doença hepática alcoólica leve, porém, nos cirróticos devido ao consumo de álcool, esta taxa corresponde somente a 50% (variação: 18% a 75%)²².

Nos portadores crônicos de VHC diversos fatores têm demonstrado influenciar a progressão clínica da infecção crônica do VHC para cirrose, tais como a idade no momento da infecção, o uso excessivo de álcool e, de forma controversa, genótipo viral 1b²³⁻²⁴. O papel de outros fatores como a coinfeção pelo VHB e VHA tem sido sugerido na literatura.

Alguns fatores como a doença hepática crônica preexistente e a idade do paciente são considerados predisponentes para o desenvolvimento de hepatite viral fulminante. Vento et al.²⁵ observou uma alta taxa de hepatite fulminante (41%) em pacientes com hepatite C crônica na vigência de superinfecção com hepatite aguda A. Adicionalmente, a infecção aguda pelo VHC nos portadores crônicos de infecção pelo VHB foi associada a um elevado risco de hepatite fulminante. Num estudo de 109 pacientes com hepatite C aguda, a incidência de hepatite fulminante foi de 23,1% no grupo portador de infecção crônica oculta pelo VHB comparada a 2,9% no grupo sem infecção VHB oculta²⁶.

Um estudo realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) por da Silva et al.²⁷ avaliando 1.000 pacientes infectados por VHC assistidos no ambulatório de hepatologia, demonstrou uma prevalência de anti-HAV IgG de 92% e de anti-HBc IgG de 24% nestes pacientes, indicando que 8% destes indivíduos apresentavam susceptibilidade para o VHA e 76% susceptibilidade para o VHB, enfatizando a necessidade de imunização desta população alvo²⁷. Vide Figura 1.

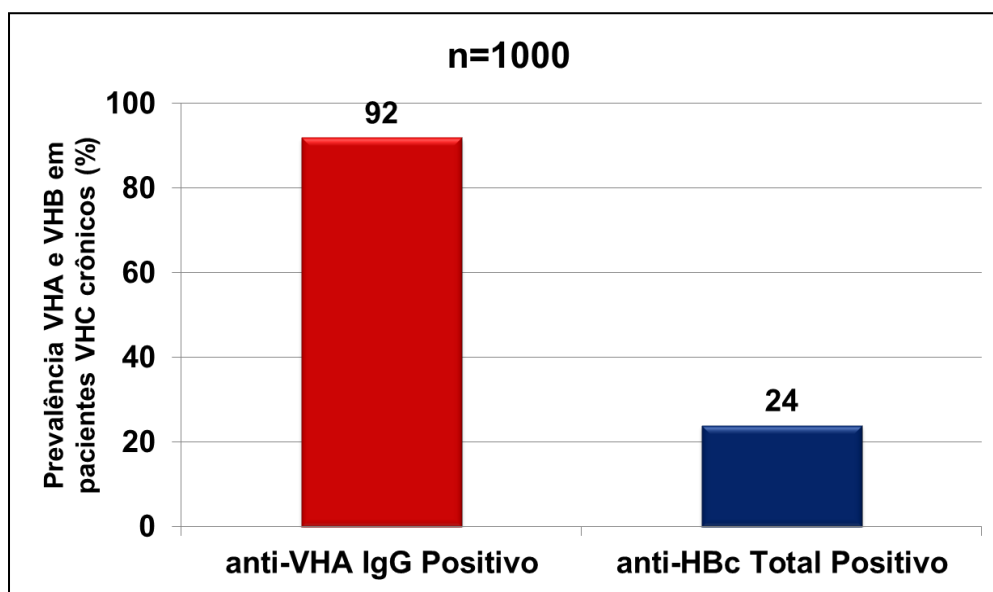


Figura 1. Prevalência VHA e VHB em portadores crônicos VHC

Fonte: Silva et al.²⁷.

Vários estudos têm evidenciado que certos grupos, como usuários de drogas endovenosas, hemofílicos, pacientes hemodialíticos e indivíduos com múltiplos parceiros sexuais e/ou indivíduos que praticam sexo desprotegido frequentemente, possuem marcadores sorológicos de ambos os vírus. Em alguns países, a coinfeção VHB/VHC surge como um potencial fator na evolução para CHC²⁸⁻²⁹. A incidência estimada de carcinoma hepatocelular é de 1 a 8% ao ano no contexto da cirrose hepática associada ao VHC³⁰.

Ainda que a taxa de coinfeção VHB/VHC permaneça desconhecida, os estudos epidemiológicos estimam que nos hepatopatas crônicos por VHC, o risco de coinfeção com VHB pode variar de 9% a 30%, dependendo da região geográfica³¹. Contudo, é interessante salientar que estas taxas podem estar subestimadas devido à falta de coortes multicêntricas que tenham avaliado este aspecto e, também a existência da hepatite B oculta que se

distingue pela ausência do marcador sorológico de superfície (AgHBs) e HBV-DNA detectável³².

O fenômeno de superinfecção pelo VHC é, reconhecidamente, discutido, devido a alta prevalência, nos países asiáticos, da infecção pelo VHB. A superinfecção com VHC pode resultar em supressão da replicação do VHB e, conseqüentemente, levar a perda do “s”, que é o antígeno da superfície do VHB³³. Após a superinfecção e a soroconversão do AgHBs, a infecção por VHC pode persistir e resultar em hepatite crônica. Em contrapartida, a interação entre os vírus VHB/VHC também pode resultar no agravamento da doença hepática e aumento do risco de hepatite fulminante. O risco de mortalidade no curso da superinfecção pelo VHC, nos portadores de VHB crônica, pode ser superior a 10%³¹.

No estudo conduzido por Zarski et al.³⁴ na França, foram avaliados 23 pacientes portadores de infecção por VHB e VHC, que apresentavam anti-HCV e AgHBs positivos. Os grupos do estudo foram avaliados e subdivididos mediante a presença ou ausência de VHB-DNA. Os parâmetros soropidemiológicos não demonstraram diferenças entre os dois grupos, entretanto, a prevalência da cirrose foi mais elevada nos coinfectados VHB/VHC, comparados aos monoinfectados pelo VHC³⁴.

Mohamed et al.³⁵ avaliaram clínica e histologicamente 20 coinfectados por VHB/VHC, comparando a 33 monoinfectados por VHC e observaram que os coinfectados evoluíam com maior gravidade clínica e, a cirrotização foi significativamente mais elevada nos coinfectados (95% vs 45,5%).

Similarmente, a presença de carcinoma hepatocelular foi mais comum nos portadores de VHB/VHC, quando comparados ao grupo controle, demonstrando uma progressão mais grave quando ocorre a associação destes vírus.

1.3 Imunogenicidade Anti-HBV

Diversas vacinas Anti-HBV estão disponíveis no mercado mundial. Neste contexto, essas vacinas são consideradas altamente seguras e eficazes na formação de títulos soroprotetores (Anti-HBs ≥ 10 mUI/mL). Entretanto, aproximadamente 40% dos pacientes com infecção crônica pelo VHC formam anti-HBs abaixo de 10mUI/mL, após serem imunizados contra a hepatite B, indicando que a vacina falha na proteção deste grupo de pacientes³⁶. A literatura internacional preconiza que hepatopatas crônicos sejam imunizados primariamente contra VHB, mas por inúmeras razões constatamos que estas recomendações por diversas vezes não são cumpridas. Dentre estas razões podemos destacar: o desconhecimento destas orientações, a falta de disponibilidade das vacinas nos serviços de atenção primária, o regime de aplicação das doses, incorporado pelos centros de imunização locais, regimes descontinuados e incompletos por vontade própria dos pacientes, a própria gravidade funcional hepática dos pacientes no seu seguimento clínico abstraindo o foco da assistência no tocante à proteção deste grupo de hepatopatas crônicos.

As revisões sistemáticas neste assunto evidenciam a necessidade premente de imunizarmos estes pacientes contra hepatites A, B,

pneumococo, influenza e outros microrganismos e, particularmente na imunização contra hepatite B, vários estudos têm enfatizado esta necessidade no sentido de alertar para as fases evolutivas da doença, no caso, cirrose hepática e suas complicações, tanto quanto o surgimento do CHC, situações que impactam na morbi-mortalidade destes pacientes³⁷.

Outro aspecto que enfatiza a necessidade mandatória de imunizar pacientes portadores de VHC contra o VHB, atrela-se ao fato das vias similares de infecção compartilhada por ambos os vírus. A vacina anti-HBV é considerada a primeira vacina com potencial anti-oncogênico, pois pode evitar a evolução para o CHC, além de ter sido a primeira vacina licenciada para evitar uma infecção sexualmente transmissível (IST), a hepatite B.

A importância do conhecimento da prevalência do AgHBs em certas áreas geográficas, auxilia tanto no conhecimento do mais eficiente modo de transmissão das regiões, quanto no melhor direcionamento e implementação das políticas públicas de saúde de conscientização e imunização³⁸⁻³⁹.

Considera-se a vacina anti-HBV como altamente imunogênica e eficaz na prevenção de infecções clínicas e subclínicas nos mais diversos grupos de idade. As séries compostas de três doses com 10 µg ou 20 µg recombinantes AgHBs induzem à formação de anticorpos em 90 a 95% dos indivíduos jovens saudáveis⁴⁰⁻⁴². A não responsividade à imunização anti-HBV em indivíduos previamente hígidos tem sido atribuída a alguns fatores como o tabagismo, a obesidade, idade avançada e certos tipos de HLA ou haplótipos⁴⁰⁻⁴⁴.

Alguns estudos de imunogenicidade da vacina anti-HBV em pacientes com hepatite C têm indicado uma resposta diminuída tanto na administração

da dose padrão, quanto nas doses testadas para avaliar a resposta vacinal⁴⁵⁻⁴⁶.

No estudo de Chlabicz et al.⁴⁷, que incluía 48 portadores de VHC, expostos a 20 µg de Engerix B, a taxa global de soroproteção, ao final de trinta dias pós-vacinação, foi de 72,9% vs 90,9% no grupo controle sadio ($p < 0,05$). Dados semelhantes também foram evidenciados por Leroy et al.⁴⁸ em um estudo de imunogenicidade da VHB (20µg) com doses administradas na entrada do estudo, um e dois meses após. Neste estudo foram selecionados 77 portadores de VHC e a taxa de soroproteção correspondeu a 63,6% vs 93,9% nos 231 controles⁴⁸.

A manutenção da resposta imune à vacina em portadores de VHC também é outro aspecto importante: nos dados de Chlabicz et al.⁴⁹, quatro anos após imunização anti-HBV em 36 portadores de VHC, mais de 60% não mantiveram os níveis de soroproteção, constituindo um risco clínico relevante na aquisição de infecção pelo VHB.

Algumas técnicas de combinação de vacinas têm sido empregadas com antígenos do core (AgHBc) e superfície (AgHBs) para elucidar a resposta humoral e celular, que pode ser empregada no controle da infecção via células T CD8⁺, bem como na estimulação de células B de memória na produção de anticorpos⁵⁰⁻⁵¹, mas os estudos nesta área de conhecimento ainda são escassos. Os estudos de vacina que estão em desenvolvimento, estimulam a imunidade tanto humoral quanto celular, ajudando no controle de infecção via células T CD8⁺ tão bem quanto na estimulação de células de memória para a produção de anticorpos. A nova vacina consiste de hepBsAg e hepBcAg,

cuja base é a saponina ISCOMATRIX™ adjuvante e tem comprovado ser efetiva. Em modelos experimentais de camundongos infectados cronicamente com hepatite B, estes executam a produção de AgHBc e AgHBs específicos para células T CD8⁺, bem como estimulam células plasmáticas a produzirem altos títulos de anticorpos contra ambos os antígenos⁵¹⁻⁵².

Em outro estudo, realizado por Cardell et al.⁵³, administrando 3 doses de vacina combinada hepatite A e hepatite B (TWIN-RIX, GlaxoSmithKline Biologicals S.A. , Rixensart – Bélgica ou GlaxoSmithKline Biologicals S.A., Wavre – Bélgica), via intramuscular, para 44 pacientes que tinham sido previamente não respondedores a 4 doses de vacina intradérmica, aproximadamente 95% (42 pacientes) demonstraram títulos soroprotetores >10 mUI/mL, com 35 destes pacientes desenvolvendo títulos superiores a 100 mUI/mL. Estes dados sugerem que antígenos da hepatite A podem atuar como um adjuvante e melhorar globalmente a resposta imune⁵³.

Dentre as estratégias de prevenção da progressão da doença nos portadores crônicos de VHC, encontramos a recomendação de imunização de todos os portadores de hepatite C contra os VHA e VHB, com o intuito de evitar piora do dano hepático, além do fato de que portadores de VHC apresentam um risco elevado de aquisição do VHB devido às vias similares de transmissão destes dois vírus.

1.4 Imunogenicidade da Vacina Butang

A partir de 1982 foram licenciadas as primeiras vacinas Anti-HBV que eram oriundas do plasma de pacientes cronicamente infectados, com AgHBs

inativados através de métodos físico-químicos⁵⁴. Desde 1986, as vacinas produzidas a partir da tecnologia de DNA recombinantes, têm sido vastamente utilizadas na imunização contra o VHB⁵⁵.

A vacina Butang (VrHB-IB) é uma vacina genuinamente brasileira, produzida no Instituto Butantã, no estado de São Paulo, extraída a partir de leveduras, cujos estudos multicêntricos avaliaram a imunogenicidade em comparação à vacina-referência (Engerix B, Glaxo Smith Kline) e, as taxas de soroconversão demonstraram títulos soroprotetores tanto em crianças (dose:10 µg) quanto em adultos (dose: 20 µg). A seguir, destacamos alguns dos estudos relevantes para a implementação da vacina Butang[®] no Calendário Brasileiro de Vacinação.

Martins et al.⁵⁶ avaliaram a imunogenicidade da vacina Butang[®], sendo incluídas 2.754 pessoas. As doses utilizadas foram 10 µg para crianças e adolescentes e 20 µg, em adultos e a formação de anti-HBs ≥ 10 mUI/mL foram considerados títulos soroprotetores. Os resultados demonstraram soroproteção de 93,7% e 100% para crianças e adolescentes respectivamente, enquanto que nos adultos com idade inferior a 40 anos, estes títulos foram acima de 90%⁵⁶.

Luna et al.⁵⁷ (2009) realizaram um estudo avaliando a eficácia e a segurança da vacina Butang[®] em 486 recém-nascidos e observaram que é um produto equivalente à vacina-referência conferindo soroproteção de 100% e, nenhum registro de eventos adversos graves.

Em outro estudo conduzido por Moraes et al.⁵⁸ com 419 adultos, cuja faixa etária variava entre 31 a 40 anos de idade, os resultados demonstraram

uma soroproteção de 98,6% e, à vacina brasileira foi equivalente a vacina referência. Não foram observados eventos adversos graves.

A distribuição de soroproteção no município de São Paulo no período de 2004-2005, quando avaliada a vacina, VrHB-IB demonstrou uma taxa de soroproteção correspondente a 98,6% (213 indivíduos) vs 95,6% (194 indivíduos) da vacina referência. No mesmo período foi avaliada a intensidade desta soroconversão e, nas análises realizadas, tanto a VrHB-IB quanto a vacina Engerix B demonstraram forte intensidade (soroconversão Anti-HBs) que equivaleu a 95,4% vs 84,7%, respectivamente⁵⁸.

Desde 2008 é utilizada a vacina Butang[®] para todas as pessoas que a vacina Anti-HBV estiver indicada, incluindo os grupos de risco e imunossuprimidos. É importante relatar que 25 µg (1mL) da vacina Butang[®] corresponde a 20 µg das vacinas de outros laboratórios e, a via de aplicação no vasto lateral da coxa em crianças menores de 2 anos de idade ou no deltóide acima desta faixa etária. A dose permanece a mesma, ou seja, 0 a 19 anos de idade a dose de 0,5 mL (12,5 µg) e 20 anos ou mais a dose de 1mL (25 µg).

1.5 Hepatite C: perfil imunológico frente a vacinação anti-HBV

A resposta imune celular T pode ser dividida em Th1 (“T *helper* 1”) e Th2 (“T *helper* 2”), de acordo com a secreção de citocinas que as células estimuladas irão apresentar. As células Th1 produzem interleucina 2 (IL2) e interferon gama (IFN- γ), e as Th2 produzem IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10⁵⁹.

A resposta imune celular mediada geralmente é influenciada pelas células Th1, ao passo que as células Th2 determinam a resposta de células B com produção de anticorpos⁶⁰.

Os títulos soroprotetores de anti-HBs após uma estratégia vacinal completa declinam com o tempo para níveis baixos ou indetectáveis, porém estas concentrações de anticorpos abaixo do nível de detecção ou proteção não são consideradas um indicador de perda da proteção. As evidências demonstram que o número de linfócitos B de memória, capazes de produzir anti-HBs, não se reduz ao longo do tempo⁶⁰⁻⁶¹.

Os resultados das meta-análises de 33 estudos demonstraram que cerca de 75% dos recém-nascidos ou crianças até 5 anos de idade mantinham títulos soroprotetores superiores a 10 mUI/mL, oscilando para 20% na idade de 20 anos, e pouquíssimos demonstraram quaisquer evidências de infecção pelo VHB.

Os adjuvantes aumentam a imunogenicidade das vacinas induzindo inflamação no local da injeção. Novos adjuvantes estão melhorando a imunogenicidade da vacinação primária, mas o efeito na reatogenicidade e eficácia a longo prazo de imunidade ainda não estão estabelecidos⁶²⁻⁶³.

As vacinas combinadas representam uma abordagem para melhorarem a eficácia dos programas de vacinação, usando uma combinação de antígenos do VHB com outros antígenos não interferentes⁶⁴⁻⁶⁵.

Diversos estudos exploraram o fato de que um grande número de células dendríticas que apresentam antígenos estão localizadas na pele, especificamente na derme. Conseqüentemente, estas células ativam as

células imunogênicas nos linfonodos correspondentes, onde drenam. Esta apresentação do antígeno na derme aumenta o potencial para ativação da camada imunológica e desenvolvimento de anticorpos protetores⁶⁶⁻⁶⁸.

Isoladamente, a monitoração da resposta de anticorpos por si só é inadequada para determinar imunidade em longo prazo. A presença de memória imunológica, que consiste na capacidade de montar uma resposta anamnésica com um aumento secundário nos títulos de anticorpos contra hepatite B, por consenso tem sido definida como um aumento dentro de 10 a 28 dias nas concentrações de anti-HBs a 10 mIU/ml ou mais em indivíduos soronegativos para concentrações de anti-HBs (ou com níveis inferiores a 10 mIU/ml) antes da dose adicional e, como um aumento (alguns autores especificam pelo menos 4 vezes) em títulos de anti-HBs em indivíduos com níveis soroprotetores antes da dose adicional⁶⁹. Devido à fraca resposta primária, a diminuição da memória imunológica parece ser mais frequente em indivíduos vacinados ao nascimento e/ou com baixas doses de vacina⁷⁰.

A memória imunológica pode ser demonstrada epidemiologicamente através da prevenção da infecção ou à falta de doença, e imunologicamente através do aumento da capacidade de revacinação e da presença de células de memória T e B. Estudos detalhados mostraram a complexidade da (e ainda não está claro) interação entre células *naïves*, memória central, memória efetora e células T terminalmente diferenciadas. Células T de memória específicas para VHB são detectáveis no sangue periférico por mais de cinco anos após a vacinação primária e a eficácia da vacinação depende dos diferentes repertórios circulantes destas células⁷¹⁻⁷³.

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A vulnerabilidade dos hepatopatas crônicos pelo VHC tem sido alvo de muitos estudos de vacinação. Considerando-se geralmente a perda vacinal de 19 a 30%, quando estes indivíduos são submetidos a diferentes estratégias vacinais (aumento de doses ou frequência acelerada) contra a aquisição do VHB, torna-se importante investigar qual seria a dose efetiva que poderia melhorar essas taxas de soroproteção e, não menos importante reduzir a morbi-mortalidade quando estes indivíduos estivessem mediante situações de risco de contraírem o VHB.

Outro aspecto considerado foi administrar uma dose adicional aos portadores de VHC que não atingissem títulos soroprotetores quando submetidos à estratégia vacinal primária, afim de estimular a formação destes títulos soroprotetores Anti-HBV.

3.1 Objetivos Primários

- I. Avaliar eficácia de resposta imunogênica em portadores crônicos de VHC submetidos a diferentes doses de vacina contra o VHB;
- II. Avaliar a resposta vacinal em portadores crônicos de VHC não respondedores ao esquema de 3 doses da vacina Anti-HBV, quando submetidos a uma 4^a dose adicional da vacina;

3.2 Objetivos Secundários

- I. Estimar resposta imunogênica em portadores crônicos de VHC imunizados contra VHB quando comparados aos controles sadios;
- II. Avaliar os fatores relacionados ao vírus e ao hospedeiro que podem influenciar na resposta vacinal Anti-HBV dos portadores crônicos de VHC;
- III. Avaliar a sustentabilidade de soroconversão em portadores crônicos de VHC após 6 meses de vacinação Anti-HBV.

4 DESENHO EXPERIMENTAL E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Neste estudo foram selecionados indivíduos com infecção crônica pelo VHC determinado pela presença do anticorpo anti-HCV e do HCV RNA quantitativo, com sorologia negativa para o VHB, não previamente vacinados, determinado pelos marcadores sorológicos anti-HBc total, AgHBs e anti-HBs, usando os kits laboratoriais disponíveis na rede pública e, destes os que apresentavam sorologias negativas para todos os marcadores da infecção pelo VHB e sorologia positiva para VHC. Adicionalmente, como grupo controle (C), foram selecionados indivíduos hígidos, com sorologia negativa para os VHB e VHC.

Além dos exames mencionados e entrevista dos candidatos ao estudo, solicitávamos a carteira de vacinação, para afastar a possibilidade de que em algum momento estes indivíduos tivessem sido vacinados previamente e, não soubessem nos informar durante o recrutamento do estudo.

4.2 Tipo de estudo

Estudo clínico controlado randomizado (ECCR)

4.3 População do estudo

O presente trabalho avaliou pacientes portadores de infecção crônica por VHC, com ausência de cirrose documentada por biópsia hepática, virgens de tratamento para a hepatite C, não imunizados contra VHB, adultos de 18

anos ou mais, com infecção documentada pelo VHC e acompanhados nos ambulatórios de hepatologia (hepatites virais) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Todo paciente que preenchesse os critérios de elegibilidade descritos abaixo foi convidado a participar do estudo e nele incluído após a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 2).

Os dados coletados foram armazenados em banco de dados até a análise.

GRUPO A: selecionados 70 indivíduos portadores crônicos de VHC, com sorologias negativas para VHB, que receberam imunização Anti-HBV com dose dobrada da vacina;

GRUPO B: selecionados 70 indivíduos portadores crônicos de VHC, sorologias negativas para VHB, que receberam imunização Anti-HBV com dose padrão da vacina;

GRUPO C: selecionados 70 indivíduos com sorologias negativas para VHB e VHC, atendidos no ambulatório geral da gastroenterologia com doença funcional do aparelho digestivo e com ausência de hepatopatias foi administrada a dose padrão da vacina Anti-HBV.

4.4 Critérios de inclusão

Para ser incluído neste estudo, o paciente deveria preencher TODOS os critérios listados abaixo:

GRUPOS A e B:

- 1- Idade igual ou superior a 18 anos;
- 2- Ausência de cirrose;
- 3- Infecção documentada pelo VHC (anti-HCV e PCR quantitativo para VHC);
- 4- Pacientes não imunizados contra VHB;
- 5- Disponibilidade para fornecer amostras de sangue após a administração da vacina anti-HBV para análise.

GRUPO C:

- 1- Idade igual ou superior a 18 anos;
- 2- Pacientes não imunizados contra VHB;
- 3- Indivíduos hígidos com sorologias negativas para VHB e VHC;
- 4- Disponibilidade para fornecer amostras de sangue após a administração da vacina anti-HBV para análise.

Pacientes com pelo menos um dos critérios abaixo foram excluídos do estudo;

4.5 Critérios de exclusão

- 1- Idade <18 anos;
- 2- Presença de cirrose;
- 3- Ausência de infecção documentada pelo VHC nos pacientes selecionados para os grupos A e B;
- 4- Pacientes previamente imunizados contra VHB;
- 5- Impossibilidade de fornecer amostras de sangue após a administração da vacina Anti-HBV para análise;
- 6- Coinfectados com HIV (vírus da imunodeficiência humana), portadores de neoplasias e uso de imunossupressores.

4.6 Variáveis analisadas

No presente estudo foram analisadas as seguintes variáveis:

- 1- Idade na 3ª dose
- 2- Sexo (feminino vs masculino)
- 3- Raça (branca vs não branca)
- 4- Genótipo (G=1 vs G≠1)
- 5- HCV-RNA (log10)
- 6- ALT (Alanina aminotransferase)
- 7- Fibrose Hepática (categorias 2-3 vs 0-1)
- 8- Atividade inflamatória (categorias 2-3 vs 0-1)
- 9- Diabetes Mellitus
- 10-Tabagismo
- 11- IMC (Índice de Massa Córpora)

4.7 Testes Laboratoriais

Os candidatos à vacina foram indivíduos que apresentaram os marcadores sorológicos anti-HBc total, AgHBs e Anti-HBs não reagentes,

Os testes sorológicos para anti-HBc, AgHBs e anti-HCV foram realizados por imunoensaios Architect (Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Ireland) de acordo com as instruções do fabricante⁷⁴.

Se a sorologia para VHB tivesse sido realizada há mais de 24 semanas, procedíamos à nova coleta de sangue para documentação atual do estado sorológico.

Para a quantificação de anti-HBs, foi utilizado o ensaio Architect Anti-HBs (Abbott Ireland Diagnostics Division), cuja sensibilidade e especificidade globais relatadas corresponderam a 97,54% e 99,67% com um intervalo de confiança de 95% para ambos e um intervalo de 0,0 a 1000mUI / mL⁷⁵.

Indivíduos anti-HCV positivos foram testados para HCV- RNA pelo ensaio Abbott Real Time HCV, cujo limite inferior de quantificação foi de 12 UI/mL⁷⁶.

A genotipagem para o vírus C foi realizada através de PCR em tempo real pelo ensaio Abbott Real Time HCV Genotype II⁷⁷.

4.8 Randomização

No mascaramento do estudo, os candidatos VHC positivos selecionados, foram randomizados por meio da distribuição aleatória de envelopes lacrados e identificados como VHC reagentes, contendo o grupo e a dose da vacina que seria administrada no Centro de Referência de

Imunobiológicos do Hospital das Clínicas (CRIE-HCFMUSP), ou seja, o grupo A (dose dobrada equivalente a 40 µg) ou o grupo B (dose padrão equivalente a 20 µg), na estratégia convencional de 0, 1 e 6 meses da entrada no estudo.

Ao grupo C, que correspondia aos controles sadios foi administrada a dose padrão correspondente a 20 µg.

Posteriormente, as amostras de sangue de todos os participantes dos três grupos (A, B e C) foram coletadas para avaliar a resposta imunogênica, aferida pela formação dos títulos de Anti-HBs um mês após a última dose da vacina.

O protocolo de vacinação compreendeu o período de setembro/2010 a março/2015 e, foi alterado a partir de 26 de junho de 2012, para fornecer uma 4ª dose da vacina aos portadores crônicos de hepatite C (VHC) não respondedores a estratégia vacinal primária de três doses, com o grupo de dose (20µg ou 40µg) sendo mantido para esta 4ª dose adicional.

4.9 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisas (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão do dia 06 de maio de 2009, sob protocolo nº 0389/09 (ANEXO 1).

4.10 Análise estatística

A variável do estudo (variável dependente) foi a resposta vacinal anti-HBV em portadores crônicos de VHC não cirróticos, após exposição à dose

dobrada da vacina, quando comparados aos grupos de portadores crônicos de VHC expostos a dose padrão da vacina e ao grupo controle. A idade, os diferentes genótipos do VHC, a carga viral do VHC, e a evolução laboratorial foram considerados variáveis secundárias (variáveis de predição). As variáveis qualitativas foram representadas por frequência absoluta (n) e relativa (%), respectivamente. As variáveis quantitativas foram representadas por média, desvio padrão (DP), mediana, valores mínimo e máximo. A análise das médias foi feita utilizando-se o teste *t* de Student.

O cálculo do tamanho da amostra foi baseado em dados preliminares da literatura, onde a diferença de resposta vacinal entre portadores de hepatite C, sem cirrose e indivíduos não portadores de hepatite C variou de 19 a 25%. Considerando-se o poder de detecção da diferença de resposta entre os dois grupos de 95%, tivemos um total de 210 pacientes a serem incluídos no estudo (70 indivíduos no grupo A, 70 indivíduos no grupo B e 70 indivíduos no grupo controle sadios).

Para avaliação das correlações entre as variáveis contínuas, foi utilizado o teste *t* de Student. Quando a comparação de médias em mais de duas categorias foi necessária, utilizamos ANOVA. Caso as variáveis não fossem semelhantes, ou não tivessem distribuição normal, foi usado um teste não paramétrico (Kruskal-Wallis). Adotamos o nível de significância equivalente a 0,05.

Para elaboração do banco de dados utilizamos o programa Epi-Info, e exportamos estes dados para o software estatístico SAS e SPSS (versão 21) para as referidas análises.

Dentre os 211 indivíduos elegíveis, 196 foram avaliados ao final do estudo. Sessenta e quatro pacientes foram randomizados para receber dose dobrada da vacina Anti-HBV (Grupo A, 40 µg nos intervalos de 0, 1 e 6 meses) e 77 pacientes foram randomizados para receber dose padrão (Grupo B, 20 µg nos intervalos de 0, 1 e 6 meses). Adicionalmente, 70 indivíduos saudáveis foram selecionados como grupo controle e receberam dose padrão da vacina (Grupo C, 20 µg nos intervalos de 0, 1 e 6 meses) (Figura 2).

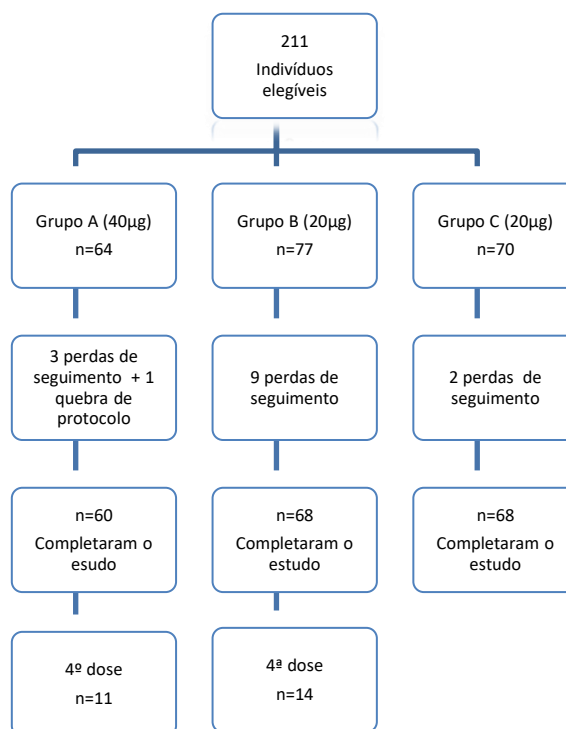


Figura 2. Estudo Prospectivo de Intervenção

Neste estudo, não houve desistência devido a efeitos adversos da vacina, pois tais efeitos foram considerados leves e, na maioria dos casos, restritos a dor no local da aplicação.

As razões para exclusão dos 15 indivíduos estão ilustradas na figura 2. Destacamos que o único óbito, embora tivesse completado as três doses do esquema vacinal, ainda estava no intervalo de tempo de espera (1 mês) necessário para comparecimento e coleta do marcador sorológico de proteção (Anti-HBs). Posteriormente, através de contato com os familiares deste desfecho (óbito), constatamos que a *causa mortis* não tinhanexo causal com a imunização Anti-HBV.

Consideramos a quebra do protocolo de estudo somente em um (1) indivíduo do grupo A (dose dobrada) que havia feito as 2 doses (0 e 1 mês da entrada no estudo) no CRIE, mas por uma questão de conveniência particular e, para não descumprir as orientações do calendário de administração das doses preconizadas na estratégia vacinal anti-HBV, realizou a última dose (20 µg) na unidade básica de saúde (UBS).

Na tabela 1 demonstramos as características demográficas dos 3 grupos de estudo, a saber: grupos A e B – portadores crônicos de VHC, que receberam dose dobrada (40 µg) e dose padrão (20 µg) da vacina anti-HBV, respectivamente. O grupo C, representando os controles sadios.

Tabela 1. Características demográficas basais dos grupos do estudo – HCFMUSP/CRIE, 2020

		Grupo A n=60	Grupo B n=68	Grupo C n=68	Total n=196	p value
Idade	Mediana	52,0	51,5	44,5	49	
	média±DP	50,9±13,3	49,5±11,5	46,5±13,8	48,7±13,4	0,143*
	<60 anos	44(73,3%)	54(79,4%)	58(85,3%)	156(79,6%)	0,245**
≥ 60 anos	16(26,7%)	14(20,6%)	10(14,7%)	40(20,4%)		
Gênero	Masculino	21(35,0%)	29(42,6%)	23(33,8%)	73(37,2%)	0,517**
	Feminino	39(56,0%)	39(57,4%)	45(66,2%)	123(62,8%)	

* Teste Kruskal Wallis,

** Teste Qui-quadrado

Na tabela 2 foi demonstrado que, em relação à etnia, os portadores de VHC crônicos são distribuídos de maneira semelhante entre os afrodescendentes e caucasianos. As comorbidades mais frequentes registradas foram sobrepeso, obesidade e diabetes mellitus tipo 2.

Tabela 2. Características demográfica-clínicas dos portadores de VHC crônicos – HCFMUSP/CRIE, 2020

		Grupo A n=60	Grupo B n=68	Total n=128	p value
Etnia	Afrodescendente	30 (50,0%)	33 (48,5%)	63 (49,2%)	0,824
	Caucasiana	29 (48,3%)	33 (48,5%)	62 (48,4%)	
	Indígena	-----	1 (1,5%)	1 (0,8%)	
	Asiática	1 (1,7%)	1 (1,5%)	2 (1,6%)	
Comorbidades	Sobrepeso	15 (38,5%)	16 (38,1%)	31 (68,3%)	0,973
	Obesidade	11 (28,2%)	8 (19,0%)	19 (23,5%)	0,331
	Tabagismo	7 (12,7%)	6 (10,3%)	13 (11,5%)	0,692
	DM2	9 (15,5%)	9 (14,5%)	18 (15,0%)	0,878

Teste Qui-quadrado

O genótipo 1 foi o mais frequente, sendo a mediana de HCV-RNA equivalente a 6 log₁₀. Aproximadamente, sessenta e cinco por cento (65%) dos portadores de VHC com estágios leve (F= 0-1) de fibrose hepática, nenhum dos participantes apresentava insuficiência renal, e 75% destes 128 VHC cronicamente infectados, formaram títulos soroprotetores Anti-HBV.

Tabela 3. Avaliação das características virais, histologia hepática, perfil clínico entre os 2 grupos de VHC crônicos – HCFMUSP/CRIE, 2020

		Grupo A n=60	Grupo B n=68	Total n=128	p value
Genótipo 1	Sim	45 (76,3%)	51(75,0%)	96 (75,6%)	0,869*
	Não	14 (23,7%)	17(25,0%)	31 (24,4%)	
HCV-RNA	Mediana	6,0	6,1	6,0	0,308**
	média±DP	34,2±128,5	17,2±74,9	20,7±90,7	
META VIR Fibrose	0-1	39 (66,1%)	43(63,2%)	82 (64,6%)	0,736*
	2-3	20 (33,9%)	25(36,8%)	45 (35,4%)	
META VIR Atividade	0-1	45 (76,3%)	50(73,5%)	95 (74,8%)	0,723*
	2-3	14 (23,7%)	18(26,5%)	32 (25,2%)	
Creatinina	Mediana	0,76	0,82	0,78	0,188**
	média±DP	0,77±0,18	0,82±0,15	0,80±0,18	
Glicemia	Mediana	90	92	91	0,933**
	média±DP	95,9±20,5	98,9±31,5	97,1±24,8	

*Teste Qui-quadrado,

** Teste Mann-Whitney

A mediana de idade após a 1ª dose entre os pacientes que soroconverteram, e os que falharam a imunização não demonstrou diferença estatística significativa.

A tabela 4 demonstra a distribuição da soroproteção de acordo com o grupo de vacina para o qual o indivíduo fora previamente randomizado durante o estudo. Nossos dados confirmam a eficácia da vacina VrHB-IB, ainda que 32 portadores de VHC (grupos A e B) não atingiram títulos soroprotetores contra VHB, assim como 6 indivíduos no grupo controle (grupo C).

Tabela 4. Distribuição de soroproteção segundo o grupo vacinal – HCFMUSP/CRIE, 2020

	Grupo A (dose dobrada)	Grupo B (dose padrão)	Grupo C (dose padrão)
Número de pacientes	60	68	68
anti-HBs ≥ 10 mUI/mL	46	50	62
anti-HBs < 10 mUI/ mL	14	18	6
Taxa de soroconversão Global	76,7% IC95%: 65-87	73,5% IC95%: 63-84	91,2% IC95%: 84-99

Resposta à vacina foi mensurada através dos títulos Anti-HBs coletados 1 mês após a última dose da vacina Anti-HBV e foi definida por anti-HBs ≥ 10 UI/L.

A taxa global de soroconversão (anti-HBs ≥ 10 UI/mL) foi de 80,6%, sendo, respectivamente, de 76,7% (95%CI: 65-87%, $p=0,69$) entre aqueles receberam dose dobrada e 73,5% (95%CI: 63-84%) para os que receberam a dose padrão vs 91,2% (95%CI: 84-99%) nos controles sadios vacinados com dose padrão [$p= 0,008$ (vs dose dobrada) e $p=0,02$ (vs dose padrão)].

Dos 70 controles sadios que receberam a vacina Anti-HBV (20 μ g nos intervalos de 0, 1 e 6 meses), dois (2) indivíduos não retornaram após o término da 3ª dose da vacina Anti-HBV.

A tabela 5 demonstra o perfil de resposta dos participantes do estudo extratificado em três categorias, a saber: soroproteção (Anti-HBs ≥ 100 mUI/mL), soroconversão (Anti-HBs:10-99mUI/mL) e não-reagentes (Anti-HBs < 10 mUI/mL).

Tabela 5. Distribuição do perfil de resposta do estudo – HCFMUSP/CRIE, 2020

	HCV (n=128)	Controles (n=68)	Total (n=196)
Soroproteção anti-HBs > 100mUI/mL	65 (50,8%)	50 (73,5%)	115 (58,7%)
Soroconversão anti-HBs 10-99 mUI/mL	31 (24,2%)	12 (17,7%)	43 (21,9%)
Não-Reagentes anti-HBs <10 mUI/mL	32 (25,0%)	6 (8,8%)	38 (19,4%)

Na tabela 6 demonstramos a descrição das variáveis categóricas nos 128 portadores de VHC incluídos na análise da resposta vacinal contra o VHB após a 3ª dose, comparação entre os grupos com dose dobrada ou dose padrão, demonstrando que somente a idade (jovens), raça (branca) e genótipo (Gen#1) estão associados à responsividade Anti-HBs nos pacientes infectados por VHC.

Tabela 6. REGRESSÃO UNIVARIADA – seleção das variáveis para o modelo múltiplo – HCFMUSP/CRIE, 2020

Variável	OR	IC 95% p/ OR	p
Grupo B vs Grupo A	0,85	0,38 – 1,89	0,6827
Idade na 3ª dose	0,93	0,90 – 0,97	0,0005
Sexo Feminino vs Masculino	1,09	0,48 – 2,47	0,8343
Raça branca sim vs não	0,39	0,17 – 0,90	0,0271
Genótipo 1 sim vs não	0,25	0,07 – 0,88	0,0309
HCV-RNA	0,70	0,37 – 1,33	0,2739
ALT	1,00	0,99 – 1,01	0,8101
Fibrose categorias 2-3 vs 0-1	0,62	0,25 – 1,49	0,2828
Atividade categorias 2-3 vs 0-1	0,85	0,31 – 2,33	0,7486

No modelo final de regressão logística múltipla, que avaliou os fatores preditivos de resposta vacinal após a 3ª dose, independentemente da dose administrada, são sumarizados na tabela 7, permanecendo a idade (jovens), raça (branca) e genótipo (Gen#1) associados à títulos soroprotetores Anti-HBs nos pacientes infectados por VHC.

Tabela 7. Regressão Logística Múltipla – HCFMUSP/CRIE, 2020

Variável	OR	IC 95% p/ OR	p
Idade na 3ª dose	0,93	0,89 – 0,97	0,0004
Raça branca sim vs não	0,34	0,13 – 0,87	0,0245
Genótipo 1 sim vs não	0,14	0,03 – 0,56	0,0059

Variáveis incluídas no modelo: Idade, Gênero, HCV-RNA e Fibrose Hepática

As distribuições de soroconversão por idade vs raça vs genótipo1 encontram-se representados nos gráficos 1,2 e 3, respectivamente.

Gráfico 1. Distribuição de soroconversão após a terceira dose da vacina contra o VHB, conforme a idade

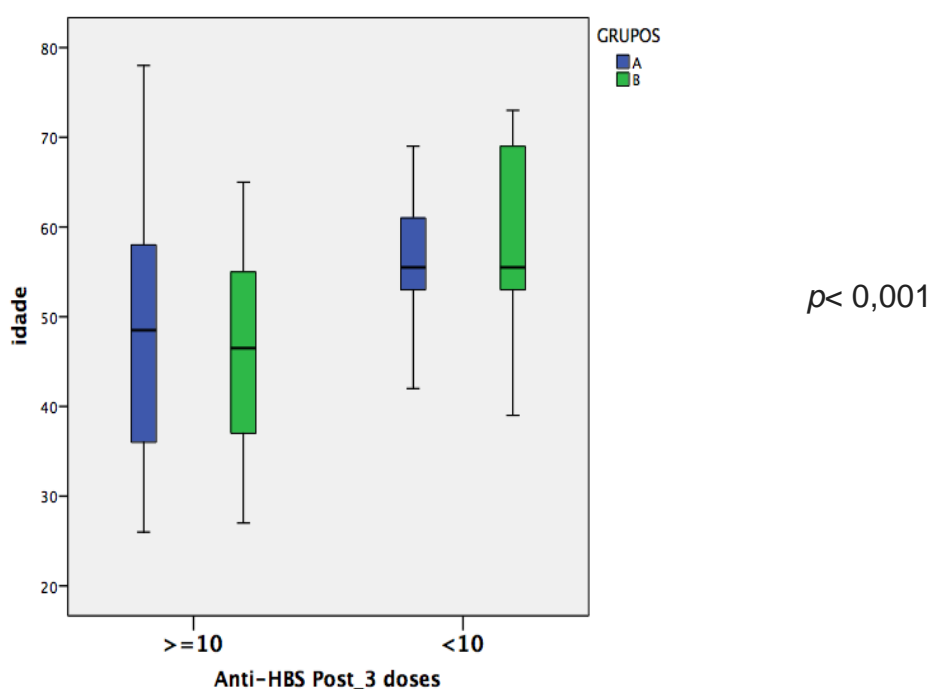
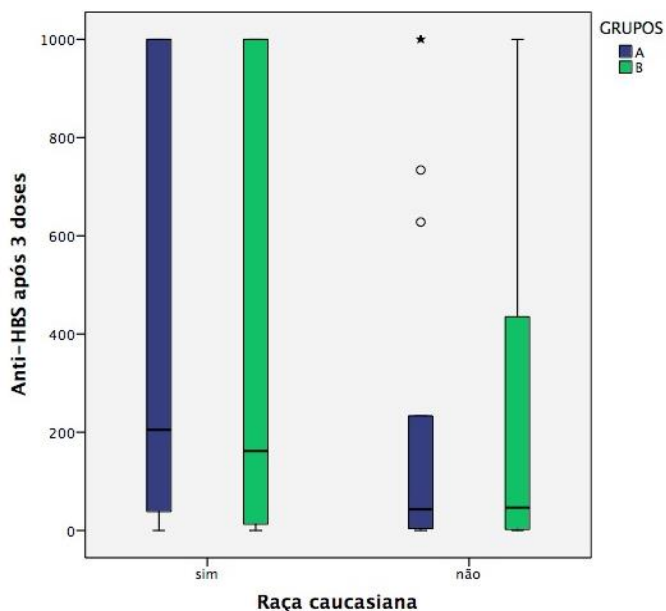


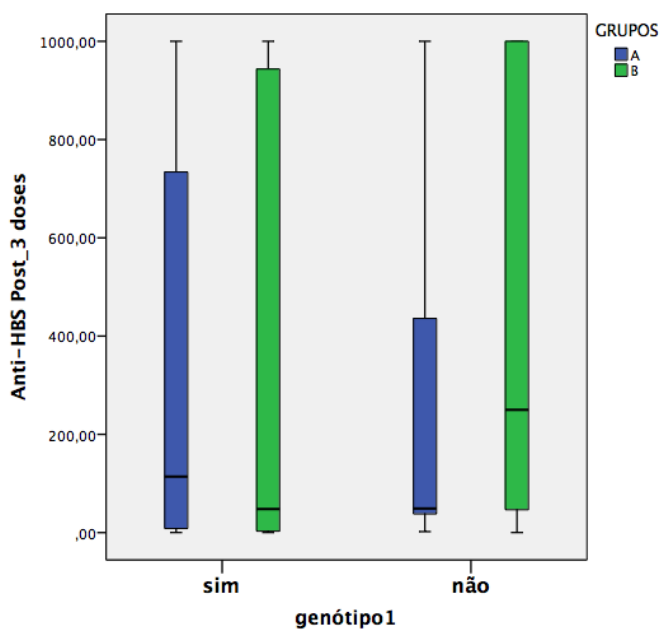
Gráfico 2. Distribuição de soroconversão após a terceira dose da vacina contra o VHB, conforme a raça



$p = 0,024$

GRUPO A: dose dobrada (40µg)
GRUPO B: dose padrão (20 µg)

Gráfico 3. Distribuição de soroconversão após a terceira dose da vacina contra o VHB, conforme o genótipo



$p = 0,005$

GRUPO A: dose dobrada (40µg)
GRUPO B: dose padrão (20 µg)

5.1 Análise da resposta vacinal após a 4ª dose

No estudo dentre os 32 pacientes VHC crônicos que não responderam à estratégia vacinal primária, apenas 25 pacientes VHC com títulos <10UI/mL atenderam convocação para receber a 4ª dose da vacina.

A dose adicional da vacina (4ª dose) foi administrada de acordo com o grupo no qual os pacientes haviam sido previamente randomizados.

Tabela 8. Características demográficas-virais dos VHC crônicos convocados para administrar a 4ª dose adicional – HCFMUSP/CRIE, 2020

		Grupo A n=11	Grupo B n=14	Total n=25	p value
Gênero	Masculino	4 (36,4%)	5 (35,7%)	9 (36,0%)	0,648
	Feminino	7 (63,6%)	9 (64,3%)	16 (64,0%)	
Raça	Africana	3 (27,3%)	5 (35,7%)	8 (32,0%)	0,496
	Caucasiana	8 (72,7%)	9 (64,3%)	17 (68,0%)	
Genótipo	1	10 (90,9%)	12 (85,7%)	22 (88,0%)	0,593
	3	1 (9,1%)	2 (14,3%)	3 (12,0%)	

Teste Exato de Fisher

Após a estratégia de intervenção da 4ª dose adicional, observamos que 8 pacientes soroconverteram (95% CI:13,7-50,3) e a taxa de soroconversão para a dose dobrada e dose padrão foi 45,5% (n=5, 95% CI:16,0-74,9) e, 21,4% (n=3, 95% CI: 0,0-42,9), respectivamente ($p=0,19$). Dados demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9. Distribuição de soroproteção VHC segundo o grupo vacinal após a 4ª dose adicional – HCFMUSP/CRIE, 2020

		Grupo A n=11	Grupo B n=14	Total n=25	p value
Mediana dos títulos		77,80	93,03	81,20	
Anti-HBs	≥ 10	5 (45,5%)	3 (21,4%)	8 (32,0%)	0,199
	<10	6 (54,5%)	11(78,6%)	17(68,0%)	

5.2 Análises de intenção de tratamento (ITT)

A prevalência de soroconversão nas análises de intenção de tratamento (ITT) ao avaliarmos os títulos soroprotetores (Anti-HBs ≥10mUI/mL), um mês após a última dose da vacina Anti-HBV, demonstram diferença estatisticamente significativa, tanto quando comparamos o grupo da dose dobrada ($p=0,0071$), ou o grupo da dose padrão ($p=0,0003$) vs os controles sadios. Esses dados são demonstrados na Tabela 10.

Tabela 10. Prevalência de soroconversão por grupo nas análises de Intenção de Tratamento (ITT) – HCFMUSP/CRIE, 2020

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
número total de pacientes	64	77	70
número de soroconvertores	46	50	62
Soroconversão	71,9%	64,9%	88,6%

$p=0,0071$ (A x C) $p=0,0003$ (B x C)

5.3 Análises por protocolo (PP)

A prevalência de soroconversão nas análises por protocolo (PP), tendo sido excluídos os *missing* de Anti-HBs, 30 dias após o protocolo de

imunização proposto, observamos que, nas comparações entre os grupos A vs C e B vs C, os valores de p , foram estatisticamente significativos e corresponderam a $p= 0,0112$ e $p= 0,0029$, respectivamente. Esses dados são demonstrados na Tabela 11.

Tabela 11. Prevalência de soroconversão por grupo nas análises Por Protocolo (PP) – HCFMUSP/CRIE, 2020

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
número total de pacientes	60	68	68
número de soroconvertores	46	50	62
Soroconversão	76,7%	73,5%	91,2%

$p= 0,0112$ (A x C) $p=0,0029$ (B x C)

5.4 Análises de intenção de tratamento (ITT) ou por protocolo (PP) nos respondedores 6 meses após a segunda dose da vacina

Nas análises de intenção de tratamento (ITT), ou nas análises por protocolo (PP), exclusivamente dentre os respondedores (Anti-HBs ≥ 10 mUI/mL) não observamos diferença estatística significativa quando comparados os títulos de anti-HBs entre os grupos do estudo (A vs C; $p=0,638$) (B vs C; $p= 0,1848$), um mês após a última dose da vacina Anti-HBV, dados demonstrados na tabela 12.

Tabela 12. Distribuição dos títulos soroprotetores de Anti-HBs (≥ 10 mUI/mL) por grupo, trinta dias após a última dose da vacina – HCFMUSP/CRIE, 2020

	Grupo A	Grupo B	Grupo C
Número de pacientes	46	50	62
Mediana dos títulos	208,9	382,6	770,0

p=0,638 (A x C) p=0,1848 (B x C)

5.5 Análise da resposta vacinal 6 meses após a vacina Anti-HBV nos VHC

No estudo averiguamos a manutenção dos títulos soroprotetores seis (6) meses após o término da última dose da vacina Anti-HBV nos hepatopatas crônicos por VHC (grupos A e B). A manutenção de títulos soroprotetores (Anti-HBs), após 6 meses de finalizada a imunização primária, foi mantida em 70% dos VHC, conforme demonstrado na Tabela 13.

Tabela 13. Persistência dos títulos soroprotetores de Anti-HBs (≥ 10 mUI/mL) por grupo de VHC, seis meses após a última dose da vacina – HCFMUSP/CRIE, 2020

Variável	Grupo A	Grupo B	Total
N° de soroconvertores	46	50	96
N° de mantenedores	28	40	68
% de manutenção de anti-HBs	60,86%	80%	70%

6.1 Resposta do HCV positivo *versus* Controles

Os indivíduos com infecção crônica por VHC têm taxas de resposta precárias a um curso clássico de vacinação contra o VHB, quando comparado às populações saudáveis (40-60% vs 90-95%), especialmente observado no contexto clínico da fibrose avançada e cirrose hepática⁷⁸. Paralelamente, esta perda vacinal oscila entre 5 e 10% nos controles saudáveis.

Partindo da premissa desta perda de resposta vacinal, relatada previamente em vários estudos, o presente estudo excluiu os hepatopatas com cirrose hepática. Ao avaliarmos os 196 indivíduos que finalizaram o estudo (128 VHC positivos e 68 controles sadios), a taxa de soroconversão global correspondeu a 75,1% nos portadores de VHC crônicos vs 91,2% nos controles sadios, respectivamente.

No presente estudo, a perda vacinal anti-HBV correspondeu a 25% dos VHC não respondedores quando submetidos a imunização primária. Tais dados são compatíveis com os dados observados na literatura científica.

Um estudo de caso-controle⁴⁶ usando a estratégia da 3ª dose, 6 meses após duas doses da vacina, comparando 59 pacientes com VHC vs 58 controles sadios, demonstrou a não responsividade em 31% dos casos e uma baixa resposta (soroconversão) em 19% dos casos, porém não explicou as razões para tal ocorrência particularmente nos pacientes não cirróticos.

A responsividade à vacina Butang[®] observada em nosso estudo, demonstrou que 96 VHC positivos (grupo A: 76,7%; grupo B: 73,5%) e 62 controles sadios (91,2%) atingiram títulos soroprotetores (anti-HBs ≥ 10 UI/mL).

Evidências de estudos reportam a não responsividade anti-HBV nos portadores de VHC podendo ser atribuída a alguns fatores como: uso de álcool, tabagismo, obesidade/sobrepeso, diabetes mellitus, insuficiência renal, genótipo, carga viral, fibrose avançada⁷⁹.

Possivelmente há alguma interação entre a resposta vacinal e a capacidade replicativa do vírus associada a outros fatores inerentes do hospedeiro, como idade, raça, ALT, sobrepeso, uso de tabaco e, comorbidades como o Diabetes Mellitus e Insuficiência Renal, que impedem a formação de títulos soroprotetores nesta população de portadores de VHC, porém, ainda há necessidade de estudos comprobatórios que possam dar sustentabilidade aos fatores que impactam na resposta imune desta população alvo.

Alguns estudos têm demonstrado que os VHC positivos podem até responder à imunização Anti-HBV, porém não tão vigorosamente com títulos soroprotetores Anti-HBs ≥ 10 mUI/mL. Estes são considerados soroconvertores, como foi demonstrado no estudo de Mattos et al.⁸⁰, que observando 85 VHC positivos *versus* 46 controles sadios, somente 37% tinham uma resposta vacinal robusta (Anti-HBs ≥ 100 mUI/mL) vs 55% soroconvertores (Anti-HBs > 10 mUI/mL).

Neste contexto, de acordo com os resultados de nosso estudo, quanto à intensidade da resposta vacinal anti-HBV, observamos que dentre os 96 VHC respondedores, 50,8% demonstraram uma resposta vacinal robusta (Anti-HBs ≥ 100 mUI/mL) vs 24,2% soroconvertores (Anti-HBs > 10 mUI/mL). Provavelmente estes resultados refletem o fato de que 75% (n=96) dos VHC

positivos estivessem numa faixa etária inferior a 60 anos de idade, ou seja, quanto mais jovem e mais precoce a imunização, mais intensa será a resposta vacinal e, presumivelmente, mais prolongado será o intervalo de tempo na manutenção destes títulos soroprotetores. Outro aspecto, reside no fato que em nosso estudo não incluímos cirróticos, diferentemente do estudo de Mattos et al.⁸⁰, refletindo um perfil de resposta mais favorável na formação de títulos soroprotetores (Anti-HBs).

6.2 Fatores relacionados ao vírus

Alguns fatores relacionados ao VHC são considerados preditores negativos de resposta na formação de títulos soroprotetores Anti-HBs, dentre estes destacamos: carga viral e genótipo.

Carga viral: Em nosso estudo ao avaliarmos o impacto da quantificação de HCV-RNA na resposta vacinal Anti-HBs dos portadores de VHC positivos, não observamos associação entre alta carga viral e menor resposta vacinal Anti-HBs, quando realizamos a modelagem de regressão logística entre essas variáveis. Diferentemente do estudo de Leroy et al.⁴⁸, que, ao avaliar 77 portadores crônicos por VHC, observou que a formação de títulos Anti-HBs foi negativamente influenciada pela quantificação de HCV-RNA.

Presumivelmente o atributo carga viral deva estar associada a outros fatores intrínsecos (raça, idade, IMC) do portador de VHC crônico, refletindo este padrão de variabilidade na resposta vacinal.

Genótipo: O VHC possui 6 diferentes genótipos (1, 2, 3, 4, 5, 6) e 2 subtipos (a, b). O genótipo mais prevalente no mundo é o genótipo 1. Dentre nossos dados, dos 128 VHC positivos, 75,6% destes correspondiam ao genótipo 1 e 24,4%, aos demais genótipos (2, 3 e 4). Nossos dados demonstraram que o genótipo 1, teve impacto negativo na formação de títulos soroprotetores, à semelhança dos dados observados no estudo de Mattos et al.⁸⁰.

6.3 Fatores relacionados ao hospedeiro

6.3.1 Idade

No grupo com idade igual ou superior a 60 anos, em nosso estudo, que correspondia a mais de 1/5 da amostra, 63,3% (n=19) formaram títulos soroprotetores (Anti-Hbs ≥ 10 UI/mL), após o término da estratégia vacinal do estudo, em conformidade com o estudo conduzido por de Rave et al.⁸¹. Analisando 106 pacientes com mais de 59 anos de idade, somente 60% dos indivíduos apresentaram títulos soroprotetores >10 mUI/mL 1 mês após o término da imunização primária⁸¹.

Paradoxalmente, no estudo de Denis et al.⁸² em pacientes com mais de 60 anos, somente 32 pacientes (45,7%) desenvolveram títulos soroprotetores Anti-HBs dentre 70 indivíduos.

O atributo idade, na modelagem de regressão logística, foi considerado o fator que mais influenciou na resposta vacinal da população estudada, posto que quanto mais avançada a idade dos pacientes, menores foram as taxas de

soroconversão anti-HBV. Diversas vacinas são menos imunogênicas e menos efetivas em idosos (≥ 60 anos) comparados a adultos jovens, devido às alterações no sistema imunológico relacionadas a idade avançada.

A eficácia da vacina anti-HBV, à semelhança de outras vacinas, progressivamente declina com o avanço da idade, assim como com outras condições de morbidade, tais como: diabetes mellitus, aumento do IMC, insuficiência renal e tabagismo.

Em contraste, na literatura internacional, a resposta vacinal é altamente variável quando estes indivíduos são submetidos à *booster* 6 ou 12 meses da imunização primária e, esta variabilidade oscila entre 16 a 89%⁸³.

6.3.2 Raça

Considerando-se que o Brasil não possui uma raça propriamente definida, devido a diversos aspectos como fluxos migratórios e a miscigenação, devemos reportar que o atributo raça, foi considerado mediante a cor de pele referida pelos participantes do estudo, sem quaisquer interferências do pesquisador no momento da aferição individual de tal atributo.

As estatísticas americanas demonstram que afroamericanos supostamente apresentam risco aumentado para progressão da fibrose hepática, visto que demonstram elevada progressão para CHC, menor resposta aos tratamentos e alta mortalidade relacionadas à descompensação hepática quando comparados aos brancos daquele país⁸⁴.

A raça branca demonstrou melhor perfil de resposta Anti-HBs quando os participantes foram submetidos a vacinação Anti-HBV ($p=0,0245$), dentre os dados observados em nosso estudo.

No estudo de Maqsood et al.⁸⁵, curiosamente, não brancos apresentaram taxas significativamente mais altas de positividade para anti-HBs no decurso da vacinação. Presumivelmente, a aceitação e o conhecimento da vacinação contra o VHB entre os pacientes e profissionais de saúde, nos vários grupos étnicos podem ser responsáveis pelas taxas discrepantes de resposta à vacina.

6.3.3 Sobrepeso e Obesidade

Ao avaliarmos no estudo o IMC (Índice de Massa Corporéa) dos VHC positivos, observamos que 31 indivíduos (68,3%) apresentavam sobrepeso e, 19 indivíduos (23,5%) obesidade. Entretanto, estes fatores não demonstraram relevância estatística em nosso estudo. Ainda assim, alguns estudos têm demonstrado o impacto desfavorável quando indivíduos com obesidade são submetidos à imunização Anti-HBV, com reduzidas respostas nos títulos soroprotetores⁸⁶⁻⁸⁷.

6.3.4 Tabagismo

Ao avaliarmos o consumo de tabaco nos VHC positivos do estudo, não encontramos significância estatística ($p=0,69$) e, supostamente, este achado pode ser consequente ao ínfimo número de fumantes na amostra, que correspondeu a 13 indivíduos (grupo A: 7; grupo B: 6). Entretanto, na

literatura, os estudos com maior número de tabagistas e VHC positivos demonstram que de fato há um impacto negativo na formação de títulos soroprotetores Anti-HBV. Kallinowski et al.⁸⁸ também concluíram que os fumantes, após a vacina, tinham resposta imunológica significativamente mais baixa do que os não fumantes. Inúmeros estudos destacam o tabaco dentre os fatores que interferem negativamente na resposta sorológica à vacinação^{43,89-92}.

6.3.5 Diabetes Mellitus

Resultados de estudos com vacinação anti-HBV entre pessoas diabéticas demonstram alguma heterogeneidade, quando considerados grupos de controles saudáveis. Esta heterogeneidade pode ser relacionada com o tipo de diabetes (tipo 1 e tipo 2), manejo da doença de base, controle glicêmico, via de administração da vacina, dose da vacina, esquemas de vacina anti-HBV⁹³. Levantamentos na literatura demonstram diferenças de soroproteção sendo geralmente baixos quando as doses são administradas nos intervalos de 0,1 e 2 meses (esquema não aprovado nos EUA) e altos títulos, quando são administradas nos intervalos de 0, 1, 2 e 12 meses (esquema alternativo aprovado nos EUA), comparados ao esquema convencional de 0, 1 e 6 meses. Dois estudos usando esquemas vacinais de 0, 1 e 2 meses demonstraram proporções baixas de soroproteção para os indivíduos com diabetes nas respectivas categorias do estudo (54,2% entre crianças e 45,8% entre pacientes renais hemodialíticos)⁹⁴⁻⁹⁵ e dois estudos, utilizando 0, 1, 2 e 12 meses, relataram altas taxas de soroproteção entre os

indivíduos diabéticos e suas categorias correspondentes (88,6% e 94,4% entre adultos e 66,7% entre pacientes renais hemodialíticos)⁹⁶⁻⁹⁷.

Nossos dados de estudo demonstraram que os portadores de VHC e Diabetes Mellitus tipo 2, correspondeu a 18 pacientes (15%) e, quando submetidos à estratégia convencional de imunização Anti-HBV, não observamos impacto nas taxas de títulos soroprotetores ($p=0,878$), provavelmente corroborado pelo fato de não termos qualquer paciente com Insuficiência Renal dentre os 128 VHC positivos participantes do estudo, dado que Diabetes tem demonstrado ser um preditor negativo na resposta vacinal Anti-HBV em pacientes com doença renal crônica.

A obesidade é o maior fator de risco para o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2; 53% dos adultos com diabetes são obesos⁹⁸.

Evidências de estudos têm demonstrado respostas reduzidas em indivíduos adultos obesos⁹⁹⁻¹⁰⁰. Alguns fatores como o comprimento da agulha inadequado para penetrar no tecido adiposo do deltóide e atingir a massa muscular podem contribuir para a resposta reduzida entre pessoas obesas¹⁰¹. O suprimento sanguíneo escasso no tecido adiposo pode interferir retardando a apresentação de antígenos para as células B e T, responsáveis pela resposta imune.

A administração de doses adicionais de vacina Anti-HBV pode melhorar a resposta imune entre os adultos com diabetes, promovendo uma melhor cobertura vacinal neste suscetível grupo de pacientes¹⁰².

6.3.6 Insuficiência Renal

A prevalência da infecção pelo VHB nos indivíduos sob hemodiálise varia de 1,2 a 1,6% nos diversos continentes. A vulnerabilidade dos portadores de doença renal crônica (DRC) é atribuída principalmente à quebra do protocolo de medidas preventivas recomendadas para agentes transmitidos por corrente sanguínea nas unidades de diálise¹⁰³. Em nosso estudo não tínhamos estes pacientes portadores de Insuficiência Renal, entretanto é importante lembrar este aspecto nos portadores de VHC, devido ao grande número de comorbidades associadas ao VHC e, as medicações usadas por estes pacientes que podem ser nefrotóxicas e, futuramente comprometer a formação de títulos soroprotetores, quando forem submetidos à imunização Anti-HBV primária.

6.3.7 Antígeno Leucocitário Humano (HLA)

Recentemente, os estudos têm demonstrado a importância do antígeno leucocitário humano (HLA) associado a Moléculas do Complexo de Histocompatibilidade Principal Classe II (MHC II) na apresentação de peptídeos virais para as células CD-4 *T-helper* e os indivíduos que falharam na resposta vacinal podem ter um defeito na apresentação do antígeno ou na estimulação das células *T-helper*¹⁰⁴⁻¹⁰⁵. Em outras palavras, isto permite com que as células T investiguem o organismo quanto à presença de peptídeos oriundos de proteínas estranhas. Ainda que nosso estudo não tenha avaliado a variável HLA/MHC, reconhecemos a importância deste atributo na avaliação dos não respondedores à estratégia vacinal Anti-HBV.

Dentre os fatores avaliados neste estudo, em análise multivariada, apenas a idade, a raça e o genótipo, se correlacionaram negativamente com a formação de títulos soroprotetores ($p < 0,1$), ou seja, a idade avançada (≥ 60 anos), a raça não branca e o genótipo 1, tendem a demonstrar títulos de Anti-HBs < 10 mUI/mL, quando os pacientes crônicos por VHC são submetidos à estratégia convencional de imunização primária Anti-HBV.

6.4 Dose dobrada *versus* dose padrão

Nosso estudo utilizou a estratégia vacinal clássica (0, 1 e 6 meses: dose dobrada vs dose convencional vs controle sadios) e reiteramos que os pacientes VHC crônicos do estudo foram virgens de tratamento para a doença de base e não cirróticos.

A distribuição de soroproteção da vacina nos hepatopatas crônicos por VHC de nosso estudo (anti-HBs ≥ 10 UI/mL), divididos em 2 grupos, para duas diferentes doses, não foi influenciada pela dose administrada. Na dose de 40 μ g (grupo A) vs 20 μ g (grupo B) da vacina Butang[®], a taxa de soroconversão global foi equivalente a 76,7% *versus* 73,5%, respectivamente.

Na lógica de melhorar o perfil da resposta vacinal Anti-HBV dentre os portadores crônicos de VHC não respondedores à imunização primária Anti-HBV, foi administrada a 4^a dose da vacina.

Estudo semelhante foi realizado por Mohammad et al.¹⁰⁶, comparando 64 pacientes com VHC crônico *versus* 32 controles sadios. Os VHC crônicos foram divididos em 2 grupos (grupo A: 20 μ g e grupo B: 40 μ g). O grupo C incluía 32 indivíduos sadios que foram expostos a 20 μ g da vacina Anti-HBV.

A estratégia vacinal adotada foi de 3 doses nos intervalos de tempo de 0, 1 e 6 meses e a vacina utilizada neste estudo foi a Hepavax-Gene® (Berna Biotech Korea Corporation/República da Coréia). O diferencial deste estudo reside no fato de que o padrão de resposta vacinal foi avaliado em 3 categorias: não resposta, hiporesponsividade e soroproteção vacinal.

O efeito da hiporesponsividade ou soroconversão foi detectada em 30%, 37,5% e 29,5%, dos grupos A (VHC/dose padrão), B (VHC/dose dobrada) e C (controles sadios/dose padrão). Ao compararmos com nosso estudo, os dados são similares na taxa de soroconversão global dentre os VHC crônicos, porém o perfil de resposta demonstrado foi mais favorável nos controles sadios de nosso estudo (91,2% vs 53,1%).

A escassez de estudos relacionadas à pesquisa de doses dobradas vs dose padrão da vacina Anti-HBV em portadores de VHC em estágios de fibrose hepática leve a moderada, dificulta a comparação destes dados, bem como uma análise mais conclusiva sobre esta questão.

Numerosos dados de literatura têm demonstrado que o aumento da dose ou diminuição dos intervalos entre as doses, ou mudanças na via de administração da vacina, podem melhorar a resposta vacinal em não respondedores submetidos às estratégias clássicas de vacinação Anti-HBV¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Bonazzi et al.¹¹⁰ demonstrou 68% de resposta vacinal na dose de 40 µg, IM, nos intervalos de 0, 1 e 6 meses em pacientes pré-transplante hepático. Neste estudo foram observados que 41% dos pacientes elegíveis do estudo tinham uma resposta robusta (Anti-HBs >1000 UI/mL), apesar da condição clínica vigente.

Outra estratégia vacinal utilizada em diversos estudos, a fim de obter uma satisfatória e protetora resposta vacinal, nos hepatopatas crônicos por vírus C, são os esquemas acelerados ou doses adicionais da vacina Anti-HBV no contexto da prevenção da hepatite B. No estudo de Kallinowski et al.¹¹¹ avaliando a imunogenicidade de vacinação A/B, combinada em pacientes VHC crônicos, submetidos a 2 estratégias diferentes de vacina (0,7 e 21 dias vs 0,30 e 180 dias), usando grupo controle, demonstrou que os títulos soroprotetores em ambos os grupos foram equivalentes (89% vs 88%), em contraste aos controles sadios (98% vs 100%).

Outro estudo conduzido por Idilman et al.¹¹² utilizando altas doses e estratégia acelerada de imunização (40 µg/mês durante três meses), obteve 72% de soroconversão em pacientes com doença hepática crônica comparado a 92% de controles sadios. Entretanto, neste estudo os cirróticos, que haviam tido uma resposta vacinal baixa, 52%, após uma dose adicional de 80 µg, obtiveram o aumento de 74% nas taxas de resposta vacinal.

6.5 Eficácia da 4ª dose

Nossos dados demonstraram a eficácia da 4ª dose adicional em não respondedores mesmo naqueles que foram submetidos à dose padrão de vacina (20 µg).

Os estudos têm demonstrado que uma dose *booster* equivalente a 40 µg adicional administradas aos VHC não respondedores, arquivam uma taxa de resposta protetiva de 80% após uma única aplicação¹¹³.

Dados semelhantes foram vistos no estudo de Hadi Sorkhi et al.¹¹⁴ que, avaliando 34 pacientes em hemodiálise (HD), que previamente haviam falhado com esquema convencional de três doses (40 µg, 2 mL, Engerix B, IM) e tinham títulos de anti-HBs inferior a 100 mUI/mL, foram selecionados para receber uma 4ª dose, distribuídos aleatoriamente, em três grupos: pelas vias intramuscular (40 µg, 2 mL), intradérmica (10 µg, 0,5 mL) e subcutânea (10 µg, 0,5 mL).

Após o término, os títulos de anti-HBs acima de 100 mUI/ml observados foram 6/11, 3/11 e 4/12 de IM, SC E ID, respectivamente, mostrando que é prático e econômico ofertar uma dose adicional da vacina.

No estudo de Das et al.¹¹⁵, ao avaliar 15 voluntários não respondedores a um regime convencional (3 doses/20 µg/IM 0, 1 e 6 meses; vacina EnivacHB) de imunização Anti-HBV, foram administradas 20 µg de *booster*, seis meses após detectada a falha na formação de títulos soroprotetores. Todos os 15 voluntários responderam à dose *booster* da vacina e a média de títulos anti-HBs foi superior a 100,5 mUI/mL, porém ressalte-se que nos critérios de seleção, foram excluídos tabagistas e obesos, o que provavelmente delineou os 100% (15/15) de cobertura vacinal na revacinação¹¹⁵.

No presente estudo, ao revacinar estes 25 pacientes VHC crônicos observa-se novamente a presença do atributo etnia associado à não responsividade na imunidade primária, representado por raça não branca ($p=0,026$). Dados semelhantes, com o atributo tabaco foram vistos no estudo de Ashhab et al.¹¹⁶ reportando que no grupo dos VHC não respondedores,

tanto na vacinação quanto na revacinação, o tabagismo, configurou como fator predisponente de não resposta à estratégia vacinal Anti-HBV.

Nossos dados demonstram que 32% (8 dentre os 25 VHC) dos revacinados com a 4ª dose apresentaram títulos soroprotetores significativamente elevados, 81 UI/L (IQR 53-94). Entretanto, nosso estudo apenas obteve um modesto retorno de pacientes para receber esta dose adicional, assim, o aperfeiçoamento do protocolo para inclusão da 4ª dose foi insuficiente para respaldar a eficácia da 4ª dose comparada à estratégia primária de 3 doses.

Fatores inerentes do hospedeiro, como a predisposição genética, além de características virais (ie, elevada carga viral) quando presentes, refletem a vulnerabilidade desta população, reforçando a premente necessidade da prevenção através da imunização, afim de que se evite uma progressão mais rápida e desastrosa da cronicidade da doença, posto que a evolução da fibrose hepática pode levar à não resposta ou hiporesponsividade vacinal nos hepatopatas crônicos, como é constatado nos portadores de cirrose hepática¹¹⁷.

6.6 Manutenção de títulos soroprotetores Anti-HBs

No presente estudo avaliamos a manutenção dos títulos soroprotetores Anti-HBV nos portadores de VHC, seis meses após a última dose da vacina. Dentre os 96 respondedores, na avaliação após 6 meses da última dose da vacina, mantiveram títulos anti-HBs, 60,86% e 80% nos grupos A (dose dobrada: 40 µg) e B (dose padrão: 20 µg) respectivamente. Apesar do

decréscimo da soroproteção vacinal ao longo dos 6 meses, a imunização ainda é uma estratégia eficaz nesta população alvo.

Em resumo, neste estudo controlado, randomizado, avaliando o efeito de dois diferentes esquemas de imunização Anti-HBV em pacientes com hepatite C crônica, a taxa de soroconversão global reduzida foi evidente e não houve melhora nestas taxas de soroproteção pela administração da dose dobrada, contudo nossos resultados sugerem que a 4^a dose adicional da vacina eleva significativamente os títulos de Anti-HBs neste grupo de hepatopatas crônicos.

- I. Nosso estudo demonstrou que pacientes VHC crônicos sem cirrose apresentam resposta à vacina Anti-HBV significativamente prejudicada e esta perda de resposta vacinal não foi influenciada pela exposição à dose dobrada do regime de vacinação Anti-HBV;
- II. A administração de uma 4ª dose da vacina elevou, de forma significativa, os títulos de anti-HBs nesta população;
- III. A não responsividade a imunização Anti-HBV nos portadores de VHC foi mais expressiva que nos controles saudáveis;
- IV. Idade avançada, raça não branca e genótipo 1 interferiram negativamente no perfil de resposta Anti-HBs nos VHC crônicos, submetidos a estratégia vacinal Anti-HBV.

8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

- I. Considerando-se os dados de perda de seguimento no decurso do protocolo (15 exclusões), podemos presumir que essas perdas, na maioria dos casos, podem ser atribuídas ao considerável número de comparecimentos dos pacientes (média 5 visitas) para monitoramento no protocolo de estudo, além das visitas que comumente tinham de realizar ao serviço terciário, para consultas clínicas em outras especialidades;
- II. Os controles sadios não foram submetidos à dose dobrada da vacina Anti-HBV, devido ao fato de inicialmente avaliarmos que nosso principal questionamento eram comprovar se havia ou não relevância na formação de títulos soroprotetores dentre os pacientes VHC reagentes, quando administrada a dose dobrada da vacina Anti-HBV, portanto, neste sentido, não vimos necessidade deste grupo (grupo D, controle sadio, 40 µg) ser exposto à dose dobrada;
- III. Os controles sadios que não responderam à estratégia convencional da vacinação Anti-HBV, que correspondeu a seis (6) participantes, apenas, conseguimos convocar dois (2) para administrar a 4ª dose e acreditamos que, neste grupo, o próprio fato de serem indivíduos hígidos, sem quaisquer comorbidades, os faz acreditar na impossibilidade de aquisição do VHB, mesmo que reiterássemos a necessidade desta dose adicional.

REFERÊNCIAS

1. Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017 Mar;2(3):161-176.
2. Polaris Observatory Collaborators. Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jun;3(6):383-403.
3. World Health Organization (WHO). *Global hepatitis report, 2017*. Geneva: WHO; 2017.
4. Silva GF, Andrade VG, Moreira A. Waiting DAAs list mortality impact in HCV cirrhotic patients. *Arq Gastroenterol*. 2018 Oct-Dec; 55(4):343-5.
5. Sousa SRG, Farias ICC, Macedo PR, Farias JVC. Overview of viral hepatitis: a current study. *Res Soc Dev*. 2020;9(9):e446997443.
6. Nader LA, de Mattos AA, Bastos GA. Burden of liver disease in Brazil. *Liver Int*. 2014 Jul;34(6):844-9.
7. Boletim Epidemiológico. Hepatites virais, 2020 [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; jul. 2020 [citado 2021 maio 26]. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2020/July/28/07---Boletim-Hepatites-2020--vers--o-para-internet.pdf>.
8. Gomes C, Wong RJ, Gish RG. Global Perspective on Hepatitis B Virus Infections in the Era of Effective Vaccines. *Clin Liver Dis*. 2019 Aug;23(3):383-399.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. *Hepatites virais no Brasil: situações, ações e agenda*. Brasília: Ministério da Saúde. 2012.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. *Hepatites virais no Brasil: situações, ações e agenda*. Brasília: Ministério da Saúde. 2011.
11. Pontisso P, Ruvoletto MG, Fattovich G, Chemello L, Gallorini A, Ruol A, Alberti A. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology*. 1993 Nov;105(5):1529-33.
12. Konstantinou D, Deutsch M. The spectrum of HBV/HCV coinfection: epidemiology, clinical characteristics, viral interactions and management. *Ann Gastroenterol*. 2015 Apr-Jun;28(2):221-8.
13. Zarębska-Michaluk D, Flisiak R, Flisiak-Jackiewicz M. Management of hepatitis B and hepatitis C coinfection: an expert review. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2020 Oct;18(10):1033-1044.

14. Sheen IS, Liaw YF, Lin DY, Chu CM. Role of hepatitis C and delta viruses in the termination of chronic hepatitis B surface antigen carrier state: a multivariate analysis in a longitudinal follow-up study. *J Infect Dis*. 1994 Aug;170(2):358-61.
15. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med*. 1999 Jul 1;341(1):22-6.
16. Marusawa H, Osaki Y, Kimura T, Ito K, Yamashita Y, Eguchi T, Kudo M, Yamamoto Y, Kojima H, Seno H, Moriyasu F, Chiba T. High prevalence of anti-hepatitis B virus serological markers in patients with hepatitis C virus related chronic liver disease in Japan. *Gut*. 1999 Aug;45(2):284-8.
17. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med*. 1999 Aug 19;341(8):556-62.
18. Lusida MI, Surayah, Sakugawa H, Nagano-Fujii M, Soetjipto, Mulyanto, Handajani R, Boediwarsono, Setiawan PB, Nidom CA, Ohgimoto S, Hotta H. Genotype and subtype analyses of hepatitis B virus (HBV) and possible co-infection of HBV and hepatitis C virus (HCV) or hepatitis D virus (HDV) in blood donors, patients with chronic liver disease and patients on hemodialysis in Surabaya, Indonesia. *Microbiol Immunol*. 2003;47(12):969-75.
19. Horton HA, Kim H, Melmed GY. Vaccinations in older adults with gastrointestinal diseases. *Clin Geriatr Med*. 2014 Feb;30(1):17-28.
20. Buxton JA, Kim JH. Hepatitis A and hepatitis B vaccination responses in persons with chronic hepatitis C infections: a review of the evidence and current recommendations. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2008 Mar;19(2):197-202.
21. Keeffe EB. Hepatitis A and B superimposed on chronic liver disease: vaccine-preventable diseases. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2006;117:227-37; discussion 237-8.
22. Reiss G, Keeffe EB. Review article: hepatitis vaccination in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004 Apr 1;19(7):715-27.
23. Tassopoulos NC, Papatheodoridis GV, Katsoulidou A, Delladetsima JK, Sypsa V, Touloumi G, Nikandros M, Hatzakis A. Factors associated with severity and disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology*. 1998 Sep-Oct;45(23):1678-83.

24. Di Bisceglie AM. Natural history of hepatitis C: its impact on clinical management [review]. *Hepatology*. 2000 Apr;31(4):1014-8.
25. Vento S, Garofano T, Renzini C, Cainelli F, Casali F, Ghironzi G, Ferraro T, Concia E. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med*. 1998 Jan 29;338(5):286-90.
26. Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut*. 1999 Oct;45(4):613-7.
27. Silva EF, Mazo DF, Oliveira CP, Medeiros RP, Carrilho FJ, Pessôa MG. HAV and HBV seroprevalence in 1,000 patients with chronic HCV infection in a Tertiary Care Center in São Paulo, Brazil. *Ann Hepatol*. 2016 Sep-Oct;15(5):691-5.
28. Chiba T, Matsuzaki Y, Abei M, Shoda J, Tanaka N, Osuga T, Aikawa T. The role of previous hepatitis B virus infection and heavy smoking in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 1996 Jun;91(6):1195-203.
29. Koike K, Kobayashi M, Gondo M, Hayashi I, Osuga T, Takada S. Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus-infected chronic hepatitis patients. *J Med Virol*. 1998 Apr;54(4):249-55.
30. Vo Quang E, Shimakawa Y, Nahon P. Epidemiological projections of viral-induced hepatocellular carcinoma in the perspective of WHO global hepatitis elimination. *Liver Int*. 2021 May;41(5):915-927.
31. Crockett SD, Keeffe EB. Natural history and treatment of hepatitis B virus and hepatitis C virus coinfection [review]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2005 Sep 13;4:13.
32. Chu CJ, Lee SD. Hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection: epidemiology, clinical features, viral interactions and treatment. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Apr;23(4):512-20.
33. Mimms LT, Mosley JW, Hollinger FB, Aach RD, Stevens CE, Cunningham M, Vallari DV, Barbosa LH, Nemo GJ. Effect of concurrent acute infection with hepatitis C virus on acute hepatitis B virus infection. *BMJ*. 1993 Oct 30;307(6912):1095-7.
34. Zarski JP, Bohn B, Bastie A, Pawlotsky JM, Baud M, Bost-Bezeaux F, Tran van Nhieu J, Seigneurin JM, Buffet C, Dhumeaux D. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol*. 1998 Jan;28(1):27-33.

35. Mohamed A el S, al Karawi MA, Mesa GA. Dual infection with hepatitis C and B viruses: clinical and histological study in Saudi patients. *Hepatogastroenterology*. 1997 Sep-Oct;44(17):1404-6.
36. Mingluan X, Yonghui F, Jun Y, Huakun L, Yongdi C, Hanqing H, Zhifang W, Chonggao H, Xiaoming L. Induction of peripheral blood T follicular helper cells expressing ICOS correlates with antibody response to hepatitis B vaccination. *J Med Virol*. 2020 Jan;92(1):62-70.
37. Lau DTY, Hewlett AT. Screening for hepatitis A and B antibodies in patients with chronic liver disease. *Am J Med*. 2005 Oct;118 Suppl 10A:28S-33S.
38. Harris AM, Millman AJ, Lora M, Osinubi A, Lom J, Miller LS. Hepatitis B testing, care linkage, and vaccination coverage within a registry of hepatitis C infected patients. *Vaccine*. 2019;37(16):2188-93.
39. World Health Organization. *Hepatitis B* [Internet]. Published by 27 Jul 2020. [cited 2020 Aug 30]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>.
40. Hadler SC, Margolis HS. Hepatitis B immunization: vaccine types, efficacy, and indications for immunization [review]. *Curr Clin Top Infect Dis*. 1992;12:282-308.
41. Hollinger FB. Factors influencing the immune response to hepatitis B vaccine, booster dose guidelines, and vaccine protocol recommendations. *Am J Med*. 1989 Sep 4;87(3A):36S-40S.
42. Lemon SM, Thomas DL. Vaccines to prevent viral hepatitis. *N Engl J Med*. 1997 Jan 16;336(3):196-204.
43. Shaw FE Jr, Guess HA, Roets JM, Mohr FE, Coleman PJ, Mandel EJ, Roehm RR Jr, Talley WS, Hadler SC. Effect of anatomic injection site, age and smoking on the immune response to hepatitis B vaccination. *Vaccine*. 1989 Oct;7(5):425-30.
44. Böcher WO, Herzog-Hauff S, Herr W, Heermann K, Gerken G, Meyer Zum Büschenfelde KH, Löhner HF. Regulation of the neutralizing anti-hepatitis B surface (HBs) antibody response in vitro in HBs vaccine recipients and patients with acute or chronic hepatitis B virus (HBV) infection. *Clin Exp Immunol*. 1996 Jul;105(1):52-8.
45. Lee SD, Chan CY, Yu MI, Lu RH, Chang FY, Lo KJ. Hepatitis B vaccination in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 1999 Dec;59(4):463-8.

46. Wiedmann M, Liebert UG, Oesen U, Porst H, Wiese M, Schroeder S, Halm U, Mössner J, Berr F. Decreased immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2000 Jan;31(1):230-4.
47. Chlabicz S, Grzeszczuk A, Łapiński TW. Hepatitis B vaccine immunogenicity in patients with chronic HCV infection at one year follow-up: the effect of interferon-alpha therapy. *Med Sci Monit*. 2002 May;8(5):CR379-83.
48. Leroy V, Bourliere M, Durand M, Abergel A, Tran A, Baud M, Botta-Fridlund D, Gerolami A, Ouzan D, Halfon P, Zarski JP. The antibody response to hepatitis B virus vaccination is negatively influenced by the hepatitis C virus viral load in patients with chronic hepatitis C: a case-control study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2002 May;14(5):485-9.
49. Chlabicz S, Lapinski TW, Grzeszczuk A, Prokopowicz D. Four-year follow up of hepatitis C patients vaccinated against hepatitis B virus. *World J Gastroenterol*. 2005 Mar 28;11(12):1798-801.
50. Petrovsky N, Cooper PD. Advax™, a novel microcrystalline polysaccharide particle engineered from delta inulin, provides robust adjuvant potency together with tolerability and safety. *Vaccine*. 2015 Nov 4;33(44):5920-6.
51. Drane D, Pearse MJ. The Iscomatrix™ adjuvant. In: Schijns VEJC, O'Hagan DT, editors. *Immunopotentiators in modern vaccines*. Cambridge, MA: Academic Press; 2006. p. 191-215.
52. Buchmann P, Dembek C, Kuklick L, Jäger C, Tedjokusumo R, von Freyend MJ, Drebber U, Janowicz Z, Melber K, Protzer U. A novel therapeutic hepatitis B vaccine induces cellular and humoral immune responses and breaks tolerance in hepatitis B virus (HBV) transgenic mice. *Vaccine*. 2013 Feb 6;31(8):1197-203.
53. Cardell K, Akerlind B, Sällberg M, Frydén A. Excellent response rate to a double dose of the combined hepatitis A and B vaccine in previous nonresponders to hepatitis B vaccine. *J Infect Dis*. 2008 Aug 1;198(3):299-304.
54. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev*. 2006;28:112-25.
55. Mast EE, Ward JW. Hepatitis B vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA. *Vaccines*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008. p. 205-41.
56. Martins RM, Bensabath G, Arraes LC, Oliveira ML, Miguel JC, Barbosa GG, Camacho LAB. Multicenter study on the immunogenicity and safety of

two recombinant vaccines against hepatitis B. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004 Dec;99(8):865-71.

57. Luna EJA, Moraes JC, Silveira L, Salinas HSN. Efficacy and safety of the Brazilian vaccine against hepatitis B in newborns. *Rev Saúde Pública*. 2009 Dec;43(6):1014-20.

58. Moraes JC, Luna EJA, Grimaldi RA. Immunogenicity of the Brazilian hepatitis B vaccine in adults. *Rev Saúde Pública*. 2010 Apr;44(2):353-9.

59. Fan XG, Liu WE, Li CZ, Wang ZC, Luo LX, Tan DM, Hu GL, Zhang Z. Circulating Th1 and Th2 cytokines in patients with hepatitis C virus infection. *Mediators Inflamm*. 1998;7(4):295-7.

60. Jan CF, Huang KC, Chien YC, Greydanus DE, Davies HD, Chiu TY, Huang LM, Chen CJ, Chen DS. Determination of immune memory to hepatitis B vaccination through early booster response in college students. *Hepatology*. 2010 May;51(5):1547-54.

61. Hudu SA, Malik YA, Niazlin MT, Harmal NS, Adnan A, Alshrari AS, Sekawi Z. Antibody and immune memory persistence post infant hepatitis B vaccination. *Patient Prefer Adherence*. 2013 Sep 27;7:981-6.

62. Jacques P, Moens G, Desombere I, Dewijngaert J, Leroux-Roels G, Wettendorff M, Thoelen S. The immunogenicity and reactogenicity profile of a candidate hepatitis B vaccine in an adult vaccine non-responder population. *Vaccine*. 2002 Nov 1;20(31-32):3644-9.

63. Saade F, Honda-Okubo Y, Trec S, Petrovsky N. A novel hepatitis B vaccine containing Advax™, a polysaccharide adjuvant derived from delta inulin, induces robust humoral and cellular immunity with minimal reactogenicity in preclinical testing. *Vaccine*. 2013 Apr 8;31(15):1999-2007.

64. Cooper C, Mackie D. Hepatitis B surface antigen-1018 ISS adjuvant-containing vaccine: a review of HEPLISAV™ safety and efficacy. *Expert Rev Vaccines*. 2011 Apr;10(4):417-27.

65. Leroux-Roels G, Haelterman E, Maes C, Levy J, De Boever F, Licini L, David MP, Dobbelaere K, Descamps D. Randomized trial of the immunogenicity and safety of the Hepatitis B vaccine given in an accelerated schedule coadministered with the human papillomavirus type 16/18 AS04-adjuvanted cervical cancer vaccine. *Clin Vaccine Immunol*. 2011 Sep;18(9):1510-8.

66. Sangaré L, Manhart L, Zehring D, Wang CC. Intradermal hepatitis B vaccination: a systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2009 Mar 13;27(12):1777-86.

67. Jakob T, Udey MC. Epidermal Langerhans cells: from neurons to nature's adjuvants. *Adv Dermatol*. 1999;14:209-58; discussion 259.
68. Glenn GM, Kenney RT, Ellingsworth LR, Frech SA, Hammond SA, Zoetewij JP. Transcutaneous immunization and immunostimulant strategies: capitalizing on the immunocompetence of the skin. *Expert Rev Vaccines*. 2003 Apr;2(2):253-67.
69. Yanny B, Konyn P, Najarian LM, Mitry A, Saab S. Management approaches to hepatitis B virus vaccination nonresponse. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2019 Feb;15(2):93-99.
70. 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.
71. Moorman JP, Zhang CL, Ni L, Ma CJ, Zhang Y, Wu XY, Thayer P, Islam TM, Borthwick T, Yao ZQ. Impaired hepatitis B vaccine responses during chronic hepatitis C infection: involvement of the PD-1 pathway in regulating CD4(+) T cell responses. *Vaccine*. 2011 Apr 12;29(17):3169-76.
72. Wang JM, Ma CJ, Li GY, Wu XY, Thayer P, Greer P, Smith AM, High KP, Moorman JP, Yao ZQ. Tim-3 alters the balance of IL-12/IL-23 and drives TH17 cells: role in hepatitis B vaccine failure during hepatitis C infection. *Vaccine*. 2013 Apr 26;31(18):2238-45.
73. Moorman J, Dong ZP, Ni L, Zhang C, Borthwick T, Yao ZQ. Abnormal B-cell activation associated with TALL-1 over-expression and SOCS-1 suppression during chronic hepatitis C virus infection. *Immunology*. 2009 Oct;128(2):227-35.
74. Abbot Laboratories. *HBsAg qualitative* [Internet]. Sligo: Abbott Ireland, Diagnostics Division; 2009 Aug [cited 2021 Sep 25]. (Architect System). Available from: https://www.illexmedical.com/files/PDF/HBsAgQuI_ARC.pdf.
75. Abbot Laboratories. *Anti-HBs* [Internet]. Sligo: Abbott Ireland, Diagnostics Division; 2009 Nov [cited 2021 Sep 25]. (Architect System). Available from: https://www.illexmedical.com/files/PDF/AntiHBs_ARC.pdf.
76. Abbot Laboratories. *Abbott Real Time HCV* [Internet]. Sligo: Abbott Ireland, Diagnostics Division; [2009] [cited 2021 Sep 25]. Available from: https://www.illexmedical.com/files/PDF/HCV_rt.pdf.
77. Abbot Laboratories. *Abbott Real Time HCV Genotype II* [Internet]. Des Plaines: Abbott Molecular Inc.; 2013 Jun [cited 2021 Sep 25]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf12/P120012c.pdf.

78. Domínguez M, Bárcena R, García M, López-Sanroman A, Nuño J. Vaccination against hepatitis B virus in cirrhotic patients on liver transplant waiting list. *Liver Transpl.* 2000 Jul;6(4):440-2.
79. Saco TV, Strauss AT, Ledford DK. Hepatitis B vaccine nonresponders: Possible mechanisms and solutions. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2018 Sep;121(3):320-327.
80. Mattos AA, Gomes EB, Tovo CV, Alexandre CO, Remião JO. Hepatitis B vaccine efficacy in patients with chronic liver disease by hepatitis C virus. *Arq Gastroenterol.* 2004 Jul-Sep;41(3):180-4. .
81. Rave S, Heijtkink RA, Bakker-Bendik M, Boot J, Schalm SW. Immunogenicity of standard and low dose vaccination using yeast-derived recombinant hepatitis B surface antigen in elderly volunteers. *Vaccine.* 1994 May;12(6):532-4.
82. Denis F, Mounier M, Hessel L, Michel JP, Gualde N, Dubois F, Barin F, Goudeau A. Hepatitis-B vaccination in the elderly. *J Infect Dis.* 1984 Jun;149(6):1019.
83. De Maria N, Idilman R, Colantoni A, Harig JM, Van Thiel DH. Antibody response to hepatitis B virus vaccination in individuals with hepatitis C virus infection [letter]. *Hepatology.* 2000 Aug;32(2):444-5.
84. Missiha SB, Ostrowski M, Heathcote EJ. Disease progression in chronic hepatitis C: modifiable and nonmodifiable factors. *Gastroenterology.* 2008 May;134(6):1699-714.
85. Maqsood MH, Kolli H, Kaur SP, Campoverde Reyes KJ, Guevara J, Shah PA, Talat A, Lau DTY. Improved hepatitis A and hepatitis B vaccination strategy is necessary for patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2020 Jun 29;8(4):326-328.
86. Roome AJ, Walsh SJ, Cartter ML, Hadler JL. Hepatitis B vaccine responsiveness in Connecticut public safety personnel. *JAMA.* 1993 Dec 22-29;270(24):2931-4.
87. Young MD, Gooch WM 3rd, Zuckerman AJ, Du W, Dickson B, Maddrey WC. Comparison of a triple antigen and a single antigen recombinant vaccine for adult hepatitis B vaccination. *J Med Virol.* 2001 Jul;64(3):290-8.
88. Kallinowski B, Bock HL, Clemens R, Theilmann L. Immunogenicity and reactogenicity of a combined hepatitis A/B candidate vaccine: first results. *Liver.* 1996 Aug; 16(4):271-3.
89. Zuckerman JN, Sabin C, Craig FM, Williams A, Zuckerman AJ. Immune response to a new hepatitis B vaccine in healthcare workers who had not

responded to standard vaccine: randomised double blind dose-response study. *BMJ*. 1997 Feb 1;314(7077):329-33.

90. Quaglio G, Talamini G, Lugoboni F, Lechi A, Venturini L, Jarlais DC, Mezzelani P; Gruppo Intersert di Collaborazione Scientifica. Compliance with hepatitis B vaccination in 1175 heroin users and risk factors associated with lack of vaccine response. *Addiction*. 2002 Aug;97(8):985-92.

91. Gardner P, Schaffner W. Immunization of adults. *N Engl J Med*. 1993 Apr 29;328(17):1252-8.

92. Keating GM, Noble S. Recombinant hepatitis B vaccine (Engerix-B): a review of its immunogenicity and protective efficacy against hepatitis B. *Drugs*. 2003;63(10):1021-51.

93. Schillie SF, Spradling PR, Murphy TV. Immune response of hepatitis B vaccine among persons with diabetes: a systematic review of the literature. *Diabetes Care*. 2012 Dec;35(12):2690-7.

94. Fiçicioğlu C, Mikla S, Midilli K, Aydin A, Cam H, Erğın S. Reduced immune response to hepatitis B vaccine in children with insulin dependent diabetes. *Acta Paediatr Jpn*. 1995 Dec;37(6):687-90.

95. Fabrizi F, Di Filippo S, Marcelli D, Guarnori I, Raffaele L, Crepaldi M, Erba G, Locatelli F. Recombinant hepatitis B vaccine use in chronic hemodialysis patients. Long-term evaluation and cost-effectiveness analysis. *Nephron*. 1996;72(4):536-43.

96. Douvin C, Simon D, Charles MA, Deforges L, Bierling P, Lehner V, Budkowska A, Dhumeaux D. Hepatitis B vaccination in diabetic patients. Randomized trial comparing recombinant vaccines containing and not containing pre-S2 antigen. *Diabetes Care*. 1997 Feb;20(2):148-51.

97. Eardley KS, Jones HE, Osman H, Smith SA. Efficacy of the accelerated hepatitis B vaccination schedule used in haemodialysis patients post-exposure to virus: a single-centre experience. *Nephrol Dial Transplant*. 2002 Nov;17(11):1982-7.

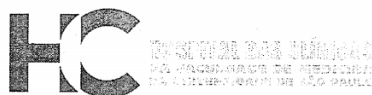
98. Centers for Disease Control and Prevention. Age-adjusted percentage of obesity for adults with diabetes, United States, 1994-2007 [Internet]. [cited 2016 May 30] Available from: http://www.cdc.gov/diabetes/statistics/comp/fig7_obesity.htm

99. Weber DJ, Rutala WA, Samsa GP, Santimaw JE, Lemon SM. Obesity as a Predictor of Poor Antibody Response to Hepatitis B Plasma Vaccine. *JAMA*. 1985;254(22):3187-9.

100. Weber DJ, Rutala WA, Samsa GP, Bradshaw SE, Lemon SM. Impaired immunogenicity of hepatitis B vaccine in obese persons. *N Engl J Med*. 1986 May 22;314(21):1393.
101. Middleman AB, Anding R, Tung C. Effect of needle length when immunizing obese adolescents with hepatitis B vaccine. *Pediatrics*. 2010 Mar;125(3):e508-12.
102. Pagani S, Cruciani L, Chianelli M, Procaccini E, Pozzilli P. Thymopentin administration and increase of sero-conversion after B-hepatitis vaccine in diabetic patients. *Diabetes Res*. 1989 Dec;12(4):199-201.
103. Gasim GI, Bella A, Adam I. Immune response to hepatitis B vaccine among patients on hemodialysis. *World J Hepatol*. 2015 Feb 27;7(2):270-5.
104. Godkin A, Davenport M, Hill AV. Molecular analysis of HLA class II associations with hepatitis B virus clearance and vaccine nonresponsiveness. *Hepatology*. 2005 Jun;41(6):1383-90.
105. Egea E, Iglesias A, Salazar M, Morimoto C, Kruskall MS, Awdeh Z, Schlossman SF, Alper CA, Yunis EJ. The cellular basis for lack of antibody response to hepatitis B vaccine in humans. *J Exp Med*. 1991 Mar 1;173(3):531-8.
106. Minakari M, Tahmasebi A, Motlagh MH, Ataei B, Yaran M, Kalantari H, Tavakkoli H. Efficacy of double dose recombinant hepatitis B vaccination in chronic hepatitis C patients, compared to standard dose vaccination. *Int J Prev Med*. 2014 Feb;5(2):145-51.
107. Aziz A, Aziz S, Li DS, Murphy L, Leone N, Kennedy M, Dhillon S, Van Thiel DH. Efficacy of repeated high-dose hepatitis B vaccine (80 microg) in patients with chronic liver disease. *J Viral Hepat*. 2006 Apr;13(4):217-21.
108. Rodrigues IC, Ferreira da Silva R, de Cássia Martins Alves da Silva R, Camarero de Felício HC. Effectiveness Analysis of the Immunization Against Hepatitis B in Liver Transplantation Patients. *Transplant Proc*. 2020 Jun;52(5):1365-1369.
109. Dhillon S, Moore C, Li SD, Aziz A, Kakar A, Dosanjh A, Beesla A, Murphy L, Van Thiel DH. Efficacy of high-dose intra-dermal hepatitis B virus vaccine in previous vaccination non-responders with chronic liver disease. *Dig Dis Sci*. 2012 Jan;57(1):215-20.
110. Bonazzi PR, Bacchella T, Freitas AC, Osaki KT, Lopes MH, Freire MP, Machado MCC, Abdala E. Double-dose hepatitis B vaccination in cirrhotic patients on a liver transplant waiting list. *Braz J Infect Dis*. 2008 Aug;12(4):306-9.

111. Kallinowski B, Jilg W, Buchholz L, Stremmel W, Engler S. Immunogenicity of an accelerated vaccination regime with a combined hepatitis a/b vaccine in patients with chronic hepatitis C. *Z Gastroenterol*. 2003 Oct;41(10):983-90.
112. Idilman R, De MN, Colantoni A, Nadir A, Van Thiel DH. The effect of high dose and short interval HBV vaccination in individuals with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2002 Feb;97(2):435-9.
113. Walayat S, Ahmed Z, Martin D, Puli S, Cashman M, Dhillon S. Recent advances in vaccination of non-responders to standard dose hepatitis B virus vaccine. *World J Hepatol*. 2015 Oct 28;7(24):2503-9.
114. Sorkhi H, Dooki MR, Ebrahimnejad MS. Low-dose intradermal and subcutaneous versus intramuscular hepatitis B vaccination in primary non-responding hemodialysis patients. *J Med Assoc Thai*. 2006 Oct;89(10):1648-53.
115. Das K, Gupta RK, Kumar V, Kar P. Immunogenicity and reactogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in subjects over age of forty years and response of a booster dose among nonresponders. *World J Gastroenterol*. 2003 May;9(5):1132-4.
116. Ashhab AA, Rodin H, Campos M, Abu-Sulb A, Hall JA, Powell J, Debes JD. Response to hepatitis B virus vaccination in individuals with chronic hepatitis C virus infection. *PLoS One*. 2020 Aug 26;15(8):e0237398.
117. Arslan M, Wiesner RH, Sievers C, Egan K, Zein NN. Double-dose accelerated hepatitis B vaccine in patients with end-stage liver disease. *Liver Transpl*. 2001 Apr;7(4):314-20.

ANEXO 1 – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NA CAPPesq



APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 06/05/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0389/09**, intitulado: "**AVALIAÇÃO DA IMUNOGENICIDADE ANTI-HBV EM PORTADORES CRÔNICOS DO VÍRUS DA HEPATITE C NÃO CIRRÓTICOS APÓS EXPOSIÇÃO DA DOSE DOBRADA DA VACINA CONTRA HEPATITE B.**" apresentado pelo Departamento de **GASTROENTEROLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

Pesquisador (a) Responsável: **Dr. Mário Guimarães Pessoa**

Pesquisador (a) Executante: **Roseane Porto Medeiros**

CAPPesq, 06 de Maio de 2009

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

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

JUSTIFICATIVA E OS OBJETIVOS DA PESQUISA

Você está sendo convidado para participar deste projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar em portadores crônicos não cirróticos do vírus da hepatite C (HCV) a capacidade de formar anticorpos contra o vírus da hepatite B (HBV) após a administração da dose dobrada da vacina contra hepatite B. Este estudo visa conhecer melhor a resposta dos portadores crônicos de HCV, pois parece que até o presente ainda não há uma dose padronizada da vacina anti-HBV que garanta uma resposta vacinal sustentada e uniforme, quando comparado aos controles sadios e, deste modo evite a progressão desfavorável da doença.

Diversos estudos têm demonstrado que alguns grupos de indivíduos freqüentemente possuem marcadores sorológicos de ambos os vírus, tais como: usuários de drogas endovenosas, indivíduos com múltiplos parceiros sexuais e/ou indivíduos que praticam sexo desprotegido, hemofílicos e indivíduos hemodialíticos. Dentre as estratégias de prevenção da progressão da doença nos portadores crônicos de HCV, encontramos a recomendação de imunização de todos os portadores de HCV contra o vírus da hepatite A (HAV) e da hepatite B (HBV), com o intuito de evitar piora do dano hepático, além do fato que portadores de HCV apresentem um risco elevado de aquisição do HBV, devido às vias similares de transmissão destes dois vírus.

Este estudo será desenvolvido na disciplina de Gastroenterologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo (FMUSP), em colaboração com a disciplina de Moléstias Infecciosas e Parasitárias da referida faculdade e, deverá ser desenvolvido no período de trinta e seis meses.

PROCEDIMENTOS QUE SERÃO REALIZADOS E PROPÓSITOS, INCLUINDO A IDENTIFICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS QUE FOREM EXPERIMENTAIS E NÃO ROTINEIROS

Se você for selecionado para participar deste estudo, através do seu perfil sorológico e, concordar em participar, deverá realizar os seguintes procedimentos:

Avaliação clínica: feita pelo médico designado para este estudo, todo o seu histórico médico será analisado e, algumas perguntas de aspectos de sua vida pessoal e familiar serão indagadas, você será examinado por este médico.

Coleta de amostras de sangue: serão coletadas amostras de sangue para avaliação de seu perfil sorológico antes e, após a exposição à dose dobrada da vacina anti-HBV.

Você deverá comparecer, em média, 3 a 4 vezes para realizar todos estes procedimentos.

O objetivo desses exames laboratoriais e indagações no momento da consulta clínica é avaliar a resposta da vacina anti-HBV em portadores crônicos não cirróticos de HCV, além das características clínico-demográficas desta população analisada no estudo.

DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS

Os riscos inerentes à coleta de amostras de sangue podendo variar de dor à picada, formação de hematoma local ou reação emocional. Você terá de retornar 3 a 4 vezes ao centro para conclusão de todas as etapas do estudo.

BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE

Os pacientes terão acesso ao perfil sorológico das hepatites virais, sendo que estas informações estarão disponíveis para o médico do paciente, através de relatórios que serão encaminhados ao final do estudo, permitindo a abordagem imunológica específica. Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício através dos dados obtidos com a realização deste estudo.

RELAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS QUE POSSAM SER VANTAJOSOS PARA O INDIVÍDUO: Nenhum

GARANTIA DE ACESSO EM QUALQUER ETAPA DO ESTUDO

Você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Mário Guimarães Pessoa que pode ser encontrado no endereço Rua Dr. Éneas de Carvalho (9º Andar) no Telefone(s) (011) 3069-7830. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento se optar por algum motivo de não participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. O paciente terá direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Os pesquisador compromete-se a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "AVALIAÇÃO DA IMUNOGENICIDADE ANTI-HBV EM PORTADORES CRÔNICOS DO VÍRUS DA HEPATITE C NÃO CIRRÓTICOS APÓS ADMINISTRAÇÃO DA DOSE DOBRADA DA VACINA CONTRA HEPATITE B".

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

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

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

(Somente para o responsável do projeto)

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

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

**ANEXO 3 – CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-DEMOGRÁFICA DOS
HEPATOPATAS CRÔNICOS POR VÍRUS C E PERFIL DE RESPOSTA À
IMUNIZAÇÃO ANTI-HBV**

	Categoria	A (n=60)	B (n=68)	Total (n=128)
Sexo	Masculino	21(35,0%)	29(42,6%)	50 (39,1%)
	Feminino	39(65,0%)	39(57,4%)	78 (60,9%)
				p=0,376
RAÇA	Negra	30(50,0%)	33(48,5%)	63(49,2%)
	Branca	29(48,3%)	33(48,5%)	62(48,4%)
	Indígena	----	1(1,5%)	1(0,8%)
	Asiática	1 (1,7%)	1(1,5%)	2(1,6%)
				p=0,824
Idade (anos)	Média	51,2	49,5	50,1
	Mediana	52	51,5	52
	Desvio padrão	13,2	11,5	12,3
	Mínimo	26	27	26
	Máximo	78	73	78
				p=0,601
Idade	<60 anos	44(73,3%)	54(79,4%)	98(76,6%)
	≥60 anos	16(26,7%)	14(20,6%)	30(23,4%)
				p=0,418
Atividade	0	27(45,8%)	25(36,8%)	52(40,9%)
	1	18(30,5%)	25(36,8%)	43(33,9%)
	2	10(16,9%)	10(14,7%)	20(15,7%)
	3	4(6,8%)	8(11,7%)	12(9,4%)
				p=0,589
Fibrose	0	16(27,1%)	22(32,4%)	38(29,9%)
	1	23(39,0%)	21(30,8%)	44(34,6%)
	2	15(25,4%)	20(29,4%)	35(27,6%)
	3	5(8,5%)	5(7,4%)	10(7,9%)
				p=0,772
Genótipo	1	45(76,3%)	51(75,0%)	96(75,6%)
	2	2(3,4%)	4(5,9%)	6(4,7%)
	3	11(18,6%)	13(19,1%)	24(18,9%)
	4	1(1,7%)	----	1(0,8%)
				p=0,664
Anti-HBs 30d	Média	336,3	375,4	357,0
	Mediana	113	99,6	107
	Desvio padrão	414,4	435,8	424,7
	Mínimo	0	0	0
	Máximo	1000	1000	1000
				p=0,904
Anti-HBs 30d	<10	14(23,3%)	18(26,5%)	32(25,0%)
	≥10	46(76,7%)	50(73,5%)	96(75,0%)
				p=0,683
HCV_RNA	Média	28,44	13,94	20,68
	Mediana	6,13	6,07	6,09
	Desvio padrão	114,67	63,66	90,86
	Mínimo	3,93	3,17	3,17
	Máximo	603,00	503,00	603,00
				p=0,308
ALT-UI/L	Média	58,51	64,21	61,59
	Mediana	41	43	43
	Desvio padrão	46,35	76,99	64,55
	Mínimo	0	0	0
	Máximo	200,00	538	538
				p=0,946