

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL**

Helena Barroso Bernal

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE PROTETORA À VACINA
CONTRA A FEBRE AMARELA EM PESSOAS VIVENDO COM
HIV/aids**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**BRASÍLIA – DF
2011**

Helena Barroso Bernal

**Avaliação da resposta imune protetora à vacina contra a febre
amarela em pessoas vivendo com HIV/aids**

Dissertação apresentada ao curso de pós graduação em Medicina Tropical da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Tropical.

Área de concentração – Clínica das Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientador: Prof Pedro Tauil

**BRASÍLIA – DF
2011**

Bernal, Helena Barroso.

Avaliação da Resposta Imune Protetora à Vacina Contra a Febre Amarela em Pessoas Vivendo com HIV/AIDS. Brasília: Universidade de Brasília/NMT, 2011.
93f. : il.

Orientador: Prof. Pedro Tauil.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília (UnB) /Faculdade de Medicina /Núcleo de Medicina Tropical.

Inclui apêndices e bibliografia.

1. Medicina Tropical 2. Febre Amarela 3. Imunização 4. Vacina 5. HIV
6. AIDS 7. Título.

CDU : 616.91

**A meu pai e minha avó Nininha,
um fruto do amor pelo conhecimento**

**A minha mãe,
pelo afeto deixado na memória**

“Para ser grande, sê inteiro: nada

Teu exagera ou exclui.

Sê todo em cada coisa, põe quanto és

No mínimo que fazes.

Assim em cada lago a lua toda

Brilha, porque alta vive”.

Fernando Pessoa

Agradecimentos

À minha grande e linda família, que tanto amor e alegria me traz nessa vida. Agradeço pelo que sou e pelos valores que me fazem digna de pertencê-la.

Ao amor de minha vida, André, agradeço pela caminhada ao longo desses anos, repleta de amor e luz e por construirmos juntos meu maior bem, nossa pequena família candanga.

A Dora e Benjamim, meus presentes divinos, por toda inspiração que me trazem e por me ensinarem a cada dia ser uma pessoa melhor.

Ao meu orientador Pedro Tauil, pela serenidade, generosidade e acolhimento, que me fizeram crescer com os ensinamentos compartilhados.

Às minhas amigas do coração e meus grandes amigos, que mesmo distantes se fazem presentes.

Aos cariodangos queridos e novos amigos que por aqui encontrei por tornarem o cerrado um lugar maravilhoso para se viver.

Às minhas colegas de mestrado por todo o companheirismo e amizade construídos durante a nossa jornada.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para que esta pesquisa fosse possível, em especial Raphael e Ana, alunos do CNPQ/PIBIC, Fabiana pela ajuda estatística e à equipe do Centro de Pesquisa Clínica e do Ambulatório de Doenças Infecciosas Parasitárias do Hospital Universitário de Brasília.

À cada paciente, pela experiência vivida e trocada, e por me deixarem ajudá-los, quando não com o conhecimento, apenas com o conforto de uma mão amiga.

Resumo

Introdução: A resposta imune protetora à vacina contra febre amarela (VFA) em pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA) ainda hoje permanece pouco estudada. A associação entre a resposta imune e o nível de linfócitos T-CD4+ (LT-CD4+) e carga viral para o HIV é descrita na literatura. A região central do Brasil é uma área crítica para febre amarela, assim é fundamental que estratégias de imunização contemplem PVHA nesta localidade. **Objetivo:** Avaliar a resposta imune protetora à VFA em PVHA e verificar a existência de associação entre essa resposta e a contagem de LT-CD4+ e o nível de carga viral plasmática de HIV em PVHA, além de outros possíveis fatores preditivos da resposta à vacina. **Metodologia:** Estudo transversal realizado em Brasília de 2009 a 2010. Critérios de inclusão: PVHA vacinadas contra febre amarela há mais de 30 dias, sem relato de infecção prévia pelo vírus amarílico. O nível de anticorpos neutralizantes contra febre amarela foi mensurado por meio do teste de neutralização em placas redutoras (PNRT), avaliando-o concomitantemente à contagem de LT-CD4+ e à carga viral. Estudou-se a associação e a correlação entre a resposta à vacina e às demais variáveis. Adotou-se para todos os testes estatísticos um nível de significância de $p < 0,05$. **Resultados:** Coletaram exames laboratoriais de 58 PVHA. A idade média foi 41 anos, 55% do sexo masculino, 78% apresentavam-se com HIV/aids na categoria clínica A de classificação do CDC (Centro de Controle e Prevenção de Doenças) e 93% estavam em uso de terapia antirretroviral combinada (TARV), média do nadir de LT-CD4+ foi 214 cel/mm^3 , a média de tempo da última dose da vacina contra febre amarela foi 2 anos, 45% dos investigados já haviam recebido mais de uma dose e 3% dos pacientes descreveram eventos adversos leves relacionados à vacina. Apenas 53 pacientes (91%) apresentavam níveis protetores de anticorpos neutralizantes. Não se observou associação entre a contagem de LT-CD4+ e a resposta à vacina, todavia demonstrou-se uma correlação positiva fraca entre estas variáveis ($r: 0,27$; $p = 0,03$). Identificou-se indícios de associação negativa entre o nível de carga viral e a resposta a vacina ($p: 0,05$) e foi observada uma correlação negativa moderada entre estas variáveis ($r: -0,41$, $p < 0,01$). Observou-se uma tendência no grupo com níveis protetores de apresentarem-se mais na categoria A (CDC), possuírem menos infecções oportunistas no passado e terem um menor de tempo transcorrido desde a última dose da vacina, porém estas diferenças não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). **Conclusão:** PVHA responderam pior à vacina contra febre amarela no que se refere à proteção imune, comparando-se a indivíduos não infectados pelo HIV, todavia a vacina mostrou-se segura. Não foi possível identificar associação entre a resposta à vacina e a contagem de LT-CD4+, apesar de existir uma correlação positiva entre estas variáveis. Há indícios de associação entre o nível de carga viral e a resposta à vacina, e uma correlação negativa entre estas variáveis. Não foram identificados outros possíveis fatores preditivos da resposta à vacina.

Palavras-chaves: vacina contra febre amarela, 17-D, imunização, HIV, AIDS, Brasil

Abstract

Introduction: The protective immune response to yellow fever vaccine (YFV) in people living with HIV/aids (PLWHA) still remains little studied. The association between immune response and the level of CD4+ T lymphocytes and viral load of HIV is described in the literature. The central region of Brazil is a high incidence area for yellow fever, so it is important that immunization strategies include PLWHA living in this region. **Objective:** To evaluate the protective immune response to YFV in PLWHA and check the association between the immune response against yellow fever and the LT CD4+ count and plasma viral load of HIV in PLWHA, and other possible predictors of response to the vaccine. **Methodology:** Cross-sectional study in Brasilia from 2009 to 2010. Inclusion criteria: PLWHA vaccinated against yellow fever after more than 30 days, with no history of prior infection for yellow fever virus. The level of neutralizing antibodies against yellow fever was measured by plaque reduction neutralization test (PNRT), evaluated concurrently with LT-CD4+ count and viral load. The association and correlation between vaccine responses and other variables were studied. For all statistical tests a significance level of $p < 0.05$ was adopted. **Results:** Fifty-eight PLWHA collected laboratory tests. The mean age was 41 years, 55% male, 78% infected by HIV were at the stage A according to CDC and 93% were in HAART, mean nadir CD4 + LT was 210 cell/mm³, the average time of the last dose of vaccine against yellow fever was 3 years, 45% of those investigated has received more than one dose and 3% of patients reported mild adverse events related to the vaccine. Only 53 patients (91%) had protective levels of neutralizing antibodies. No association was found between LT-CD4+ count and response to the vaccine, however, a positive correlation between these variables was demonstrated ($r: 0.27, p = 0.03$). Evidence of association between viral load and response to vaccine ($p = 0.05$) and a moderate negative correlation between these variables ($r: -0.41, p < 0.01$) were observed. Although statistical significance could not be achieved, a few trends could be observed in the group of responders: stage A (CDC criteria); low prevalence of opportunistic infections history and shorter time elapsed since the last dose of vaccine. **Conclusion:** PLWHA presents a worse response to YFV compared to individuals not infected with HIV. However the vaccine was safe. Association between the response to the vaccine and the LT-CD4+ count was not identified, although there is a positive correlation between these variables. There is evidence of association between viral load and response to the vaccine, and a negative correlation between these variables. Other possible predictors of response to the vaccine were not found.

Keywords: yellow fever vaccine, 17-D, immunization, HIV, AIDS, Brazil

Lista de Abreviaturas

	Significado
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Humana
<i>b</i> -DNA	Metodologia branched-DNA
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CRIE	Centro de Referência de Imunobiológicos Especieais
DNA	Doença neurotrópica aguda
DVA	Doença viscerotrópica aguda
ESPIN	Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional
EDTA	Ácido etilenodiamonotetracético
FA	Febre amarela
FAI	Fluido ascítico hiperimmune
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HUB	Hospital Universitário de Brasília
IEC	Instituto Evandro Chagas
IO	Infecção oportunista
IP	Inibidor de protease
ITT	Intenção de tratar
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
LT-CD4+	Linfócitos T-CD4+
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNRT	Teste de Neutralização em Placas Redutoras
PVHA	Pessoas vivendo com HIV/aids
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TARV	Terapia antirretroviral combinada
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
VFA	Vacina contra febre amarela

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	Febre Amarela	2
1.2.	Imunização contra Febre Amarela	6
1.3.	Imunização e HIV/aids	11
1.4.	Imunização contra Febre Amarela em pacientes com HIV/aids	17
2.	OBJETIVOS	23
2.1.	Objetivo Geral	23
2.2.	Objetivos Específicos	23
3	METODOLOGIA	24
3.1.	Delineamento do Estudo	24
3.2.	Local do Estudo	24
3.3	Critérios de Inclusão	25
3.4	Critérios de Exclusão	25
3.5.	Amostra	26
3.6.	Variáveis do Estudo	26
3.7.	Procedimentos do Estudo	27
3.7.1.	Triagem dos Pacientes	27
3.7.2.	Coleta e Transporte de Exames Laboratoriais	28
3.7.3.	Processamento de Exames Laboratoriais	30
3.7.3.1.	Quantificação de Linfócitos T-CD4+	30
3.7.3.2.	Quantificação da Carga Viral Plasmática de HIV	32
3.7.3.3.	Mensuração de anticorpos neutralizantes contra febre amarela	33
3.8.	Análise Estatística	36
3.9.	Considerações Éticas	36
4.	RESULTADOS	38
5.	DISCUSSÃO	52
6.	CONCLUSÃO	65
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
8.	APÊNDICES	77
9.	ANEXOS	82

1. INTRODUÇÃO

A resposta imune protetora à vacina contra febre amarela em pacientes infectados pelo HIV ainda hoje permanece pouco compreendida. Estudos sobre a eficácia e segurança desta vacina nesta população são escassos. A associação entre a resposta imune e o nível de linfócitos T-CD4+ e carga viral para o HIV é descrita, porém seus resultados nem sempre são concordantes (Lange et al., 2002; Cagigi et al. 2008). Em áreas endêmicas de doenças tropicais, como febre amarela (FA), é fundamental que estratégias de imunização contemplem pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA), evitando o risco de aquisição desta enfermidade nesta população.

Países tropicais, como o Brasil, devem aprofundar estudos neste tema, visando subsidiar estratégias seguras de prevenção para este grupo populacional. A região central do Brasil é uma área crítica para FA, doença com elevada letalidade, com relato de surtos da doença nos últimos anos (Ministério da Saúde, 2008).

Diante do exposto, o presente trabalho pretende analisar a resposta imune protetora de uma população de PVHA à vacina contra febre amarela (VFA), em uma área endêmica para esta enfermidade, localizada no Distrito Federal, Brasil, além de verificar a associação desta resposta com o nível de linfócitos T-CD4+ (LT-CD4+) e carga viral plasmática de HIV e investigar a existência de outros fatores preditivos desta resposta.

Os possíveis benefícios da pesquisa no nível individual são identificáveis pelo fato do paciente passar a conhecer o seu *status* de proteção contra febre

amarela, resultando em maior facilidade para o aconselhamento sobre exposições em áreas de risco.

O benefício coletivo do conhecimento adquirido está relacionado com a elucidação de uma possível relação entre níveis de linfócitos T-CD4+ e carga viral do HIV e anticorpos neutralizantes contra febre amarela, e a existência de outros fatores preditivos da resposta, assim como suas possíveis implicações em programas de vacinação e prevenção desta doença em PVHA.

1.1. Febre Amarela

A febre amarela foi uma moléstia de grande importância para a sociedade nos séculos XVIII e XIX durante a colonização das Américas e África Ocidental. Em 1881, Carlos Finlay apresentou sua hipótese, mais tarde confirmada, da transmissão da doença por mosquitos e sua prevenção por meio do controle do vetor (Franco, 1976). Com o desenvolvimento da vacina na década de 1930, o temor associado à doença e seu impacto na saúde foi reduzido (Monath, 2001).

A febre amarela é uma doença infecciosa aguda não-contagiosa cujo agente etiológico é um arborvírus, endêmica na África e na América do Sul, sendo periodicamente responsável por surtos e epidemias com elevada gravidade e letalidade, e ainda representa um grande problema de saúde pública (Tauil et al., 2005). Até o momento, não há tratamento medicamentoso específico para a doença. O tratamento limita-se ao combate dos sintomas e sinais manifestos e monitoramento hemodinâmico e eletrolítico contínuo,

detectando-se precocemente déficits e sobrecargas para sua imediata correção (Albuquerque et al., 2005).

Sob o ponto de vista epidemiológico divide-se em duas formas, silvestre ou rural e urbana, que diferem entre si quanto à natureza dos transmissores e dos hospedeiros vertebrados e ao local de ocorrência (Vasconcelos, 2003). A forma urbana ainda hoje ocorre na África. Havia sido considerada eliminada da América em 1954, contudo há relato de três casos ocorridos na cidade de Santa Cruz, na Bolívia em 1998 (Gianella, 2009) e de surto em áreas urbanas em 2008 no Paraguai, que ocasionou a morte de oito pessoas (Organização Mundial da Saúde, 2008).

Atualmente, a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2011) estima um total de 200.000 casos por ano no mundo, causando cerca de 30.000 óbitos a cada ano. Quarenta e cinco países da África e América Latina, com uma população combinada de mais de 900 milhões de pessoas, estão sob risco de infecção. Na África, estima-se que 508 milhões de pessoas vivem sob risco em 32 países. O restante desta população está em 13 países da América Latina, sendo Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador e Peru os de maior risco.

No Brasil, a febre amarela urbana não ocorre desde 1942. Enquanto o *Ae. aegypti* encontrava-se eliminado, havia uma relativa segurança quanto a não possibilidade de reurbanização do vírus amarílico. Entretanto, a reinfestação de extensas áreas do território brasileiro por esse vetor, inclusive já presente em muitos dos centros urbanos das áreas de risco, traz a possibilidade de reestabelecimento do ciclo urbano do vírus (Brasil, 2005).

Já a febre amarela silvestre tem apresentado variação cíclica nos últimos 50 anos no país, com ocorrência de surtos em intervalo de

aproximadamente cinco a sete anos. No período de 1990 a 2010 ocorreram 587 casos com 259 óbitos. A região Norte foi a que apresentou o maior número de registros (178 casos), seguida da região Centro Oeste (150 casos). A doença foi mais frequente em pessoas acima de 15 anos, do sexo masculino, em geral agricultores, madeireiros, pescadores e turistas.

No início de 2000, ocorreu um surto que teve como um dos principais locais de transmissão, o Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, no Estado de Goiás, acometendo turistas originários de várias cidades brasileiras. Nesse ano, apesar da grande maioria dos casos ter se concentrado em Goiás, a transmissão também foi observada em outros pontos do país, inclusive extrapolando as áreas tradicionalmente consideradas como de risco, com ocorrência de casos autóctones em Minas Gerais, em locais onde há cerca de 50 anos não havia registro da presença do vírus (Brasil, 2009).

Entre dezembro de 2007 e março de 2008 foram notificados 75 casos suspeitos de febre amarela silvestre no Distrito Federal, com 15 (20%) casos confirmados. A análise dos dados segundo a unidade federada de residência mostrou que 10 pessoas (67%) residiam no Distrito Federal, quatro em Goiás (27%) e uma em Minas Gerais (7%). A taxa de letalidade geral atingiu 53% (Brasil, 2008).

No ano 2008 também foi observada a reemergência do vírus da febre amarela nas regiões Sudeste e Sul do país. Após este fato seguiu-se um período de intensificação da vigilância e monitoramento da febre amarela que se iniciou em setembro de 2008 e prolongou-se durante um ano. Neste período, foram notificados 274 casos humanos suspeitos de febre amarela

silvestre (FAS), com 51 casos (19%) confirmados. Destes, 21 casos evoluíram para o óbito e, portanto, a taxa de letalidade foi de 41% (Brasil, 2009).

Entre 2008 e 2009 foi registrada a expansão da área de ocorrência no Rio Grande do Sul atingindo áreas que extrapolaram aquelas classificadas como de risco. Essa situação foi caracterizada como uma Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN), baseado no Regulamento Sanitário Internacional, 2005 (Brasil, 2005).

Para Vasconcelos (2010), a emergência da febre amarela nessas localidades pode ser explicada por uma conjunção de alguns fatores, entre os quais destacam-se: a exposição de população humana susceptível, a alta densidade de vetores e hospedeiros (primatas não humanos), as condições climáticas favoráveis (aumento da temperatura e do período de chuva), a emergência de uma nova linhagem viral e a circulação de primatas não humanos e indivíduos infectados.

Neste contexto, considerando-se o recente e recorrente aumento da área de ocorrência do vírus da FA nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do País e diante da necessidade de conter a expansão da transmissão e se antecipar ao período de transmissão sazonal de 2009 e 2010, a área com recomendação de vacinação na rotina foi ampliada (Figura 1), após os resultados das ESPIN(s), com a inclusão de mais 330 municípios (Brasil, 2009).

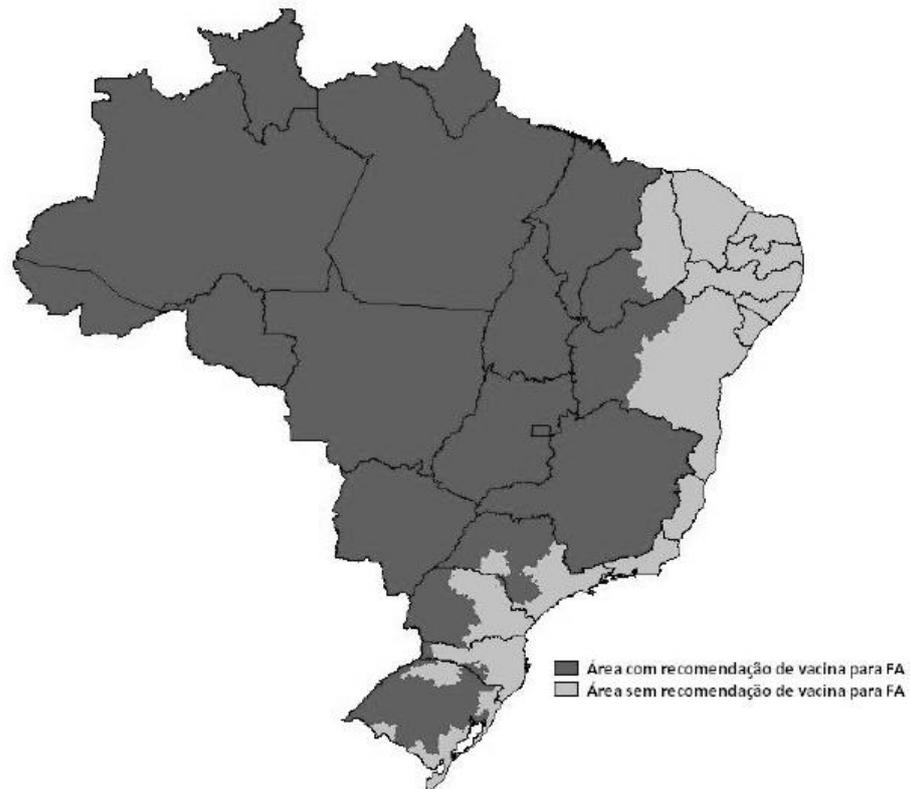


Figura 1. Mapa das Áreas com e sem recomendação de vacinação para febre amarela no Brasil.

Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Epidemiológica, 2009.

1.2. Imunização contra Febre Amarela

O método mais eficaz para se prevenir a febre amarela é a vacinação com a linhagem da cepa viral 17-D. A vacina é constituída de vírus vivo atenuado sendo considerada uma das vacinas mais bem-sucedidas desenvolvidas até a presente data, capaz de conferir imunidade duradoura, com uma única dose, em quase 100% dos indivíduos vacinados (Galler et al, 2001). Atualmente, duas cepas são usadas na produção de vacinas: 17DD e 17D-204, já tendo sido aplicadas mais de 500 milhões de doses no mundo inteiro (Gardner et al., 2010).

No Brasil, desde 1937 utiliza-se como vacina contra febre amarela a que contém a cepa 17-DD, com vírus atenuado, procedente da amostra africana Asibi, desprovida de neuro e viscerotropismo e cultivada em ovos de galinha embrionados, considerada bastante eficaz e relativamente segura. Seu efeito protetor inicia-se no décimo dia pós-vacinal e permanece por no mínimo dez anos (Tauil, 2010).

O mecanismo por meio do qual a vacina induz a resposta imune protetora permanece pouco compreendido. Uma baixa viremia (<200 pfu/ml) é detectada em aproximadamente metade dos vacinados após a vacinação e a imunidade protetora ocorre em 10 dias em 95% dos vacinados.

A vacina 17-D induz uma resposta imune humoral rápida e específica, anticorpos IgM são detectados entre três a sete dias após a vacinação, alcançam um pico em duas semanas e declinam nos meses seguintes. A resposta de anticorpos neutralizantes é rápida, detectada sete dias após a vacinação e pode persistir por pelo menos 45 anos. Até o momento todos os estudos demonstram que os anticorpos neutralizantes estão correlacionados com a proteção em 98% dos vacinados, totalmente protegidos por pelo menos 10 anos. Um título baixo de neutralização de 1:10 demonstrou ser protetor (Barrett et al., 2009).

A vacina 17D é bem tolerada. Na prática, apenas uma pequena proporção de indivíduos apresenta dor e inflamação no local da aplicação, febre, cefaléia leve, mialgia e mal estar. Eventos adversos graves são extremamente raros e pertencem a três categorias: (1) reação de hipersensibilidade, (2) encefalite causada pela neuroinvasão do vírus 17-D (doença neurotrópica aguda), e (3) infecção pansistêmica, incluindo hepatite,

semelhante à causada pelo vírus selvagem (doença viscerotrópica aguda) (Monath, 2002).

Os sinais e sintomas da doença viscerotrópica aguda (DVA) associada à vacina contra FA assemelham-se àqueles da infecção pelo vírus da febre amarela naturalmente adquirida. Aparecem entre dois a cinco dias após a vacinação, e são caracterizados inicialmente por febre alta, mialgia, artralgia e cefaléia. A condição clínica pode progredir rapidamente, com elevação das enzimas hepáticas, hiperbilirrubinemia, linfopenia, trombocitopenia, hipotensão e falência respiratória.

Já a doença neurotrópica aguda (DNA) associada à vacina contra FA é identificada como: (i) casos com envolvimento do sistema nervoso central, (ii) casos com envolvimento auto-imune do sistema nervoso central e (iii) casos com envolvimento auto-imune do sistema nervoso periférico (Conference Report, 2005).

Todavia, a vacina contra febre amarela vem sendo usada por muitos anos e relatos de eventos adversos são raros. A vigilância durante e após uma grande campanha de vacinação realizada na Costa do Marfim, na qual foram aplicadas mais de 2.6 milhões de doses, relatou apenas um caso de evento adverso grave seguido de óbito, e este estava relacionado à complicação de doença de base (diabetes mellitus), demonstrando assim a relativa segurança da vacina (Fitzner et al., 2004).

Os artigos de eventos adversos graves seguidos à vacinação contra febre amarela limitam-se a pequenos relatos de casos (Chan et al., 2001; Kietchener 2004; Doblaz et al, 2006; Engel et al 2006; McMahon et al., 2006; Belsher et al, 2007; Guimard, 2009), e segundo Galler e colaboradores (2001)

os eventos adversos que causam óbito são relacionados a características individuais e genéticas, ainda não suficientemente identificadas, que determinam o aumento da suscetibilidade do hospedeiro ao vírus da febre amarela.

No Brasil, entre 2008 e 2009, foram confirmados 56 casos de eventos adversos graves, destes, 9 foram classificados como doença viscerotrópica aguda e evoluíram para o óbito e 47 como doença neurotrópica aguda, sem registro de óbitos (Ministério da Saúde, 2009).

De acordo com OMS (2011) a vacina contra febre amarela é realizada com dois propósitos: (1) prevenir a disseminação internacional da doença protegendo países do risco de importar ou disseminar vírus amarílico; e (2) proteger individualmente as pessoas que poderão vir a se expor à infecção pela febre amarela. Nas Américas, ressalta-se o propósito de evitar a transmissão urbana pelo *Aedes aegypti*. Deste modo, a vacinação é recomendada para todos os indivíduos maiores de nove meses que residam ou se dirijam para áreas nas quais exista evidência da persistência ou transmissão periódica do vírus da febre amarela.

Contudo, segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças – EUA (CDC) existem algumas situações nas quais a VFA é contra indicada, devendo ser evitada quando o indivíduo tiver uma condição que aumente o risco de eventos adversos graves. Há outras condições nas quais se devem ter precaução na administração da vacina. Uma avaliação detalhada é requerida nessas situações que poderiam aumentar o risco de eventos adversos graves ou poderiam comprometer a habilidade da vacina em produzir imunidade.

Geralmente, a vacinação deve ser evitada quando uma contra-indicação estiver presente.

Entre as condições que contra indicam a aplicação da vacina destacam-se crianças com menos de nove meses de idade, devido ao risco aumentado de ocorrência de encefalite pós-vacinal, além de indivíduos com relato de hipersensibilidade prévia a qualquer componente da vacina e imunossupressão associada a condições imunocomprometedoras. Dentre estas, destacam-se os indivíduos com infecção pelo HIV sintomática ou Síndrome da Imunodeficiência Humana, neoplasias, desordens do timo, ou recebendo terapia imunodepressora ou radioterapia.

Algumas situações requerem precaução para administração da vacina contra febre amarela, como a aplicação em adultos maiores que 60 anos, gestantes e nutrizas e pacientes infectados pelo HIV assintomáticos, com função imune adequada comprovada laboratorialmente. Esta precaução deve-se às escassas informações sobre a segurança da vacina nestas populações.

Teoricamente, pessoas com imunodeficiência pelo HIV/aids não deveriam ser vacinadas, pois a viremia prolongada poderia aumentar o risco de neuroinvasão e encefalite, e a replicação viral descontrolada poderia aumentar o risco de lesão hepática e de outros órgãos (Monath et al., 2002).

1.3. Imunização e HIV/aids

A resposta satisfatória à vacina depende de múltiplos fatores, principalmente a natureza da vacina e o estado imune do indivíduo que a recebe (Kroger et al., 2006). A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e o estágio final da doença, a Síndrome da Imunodeficiência Humana (AIDS), representam um grande problema de saúde pública enfrentado nos tempos atuais (Mandell et al, 2005).

A imunodeficiência produzida pelo HIV não pode ser explicada somente pela depleção de linfócitos T-CD4+ *helper*. As funções de células T, monócitos e células B apresentam-se gravemente diminuídas mesmo em indivíduos assintomáticos, indicando que HIV afeta o sistema imune em estágios iniciais da infecção (Miedema et al, 1988). As alterações funcionais nas células B representam as primeiras anormalidades observadas nos leucócitos, precedendo os defeitos na atividade do linfócito T *helper* (Terpstra et al., 1989).

Assim, o que se percebe são alterações funcionais e fenotípicas nos linfócitos B. Em paralelo à ativação policlonal e à hipergamagobulinemia encontradas, as células B dos pacientes demonstram incapacidade de responderem à vacinação (Milito et al., 2004). O que se observa na infecção pelo HIV é a redução significativa das células B (CD27) de memória (Milito et al., 2001), levando a prejuízo na produção de anticorpos monoclonais neutralizantes, incluindo anticorpos com ação antiviral (Cagigi et al, 2008).

Existem diversos relatos de uma pior resposta imune à vacinação em indivíduos infectados pelo HIV (Montoya et al., 2007; Launay et al., 2008; Kalinowska et al., 2007; King et al., 1996). Came e colaboradores (1987) em um estudo realizado com 35 indivíduos infectados pelo HIV relataram uma resposta à vacina contra hepatite B significativamente menor, quando comparados aos indivíduos não infectados. Portanto, a diminuição de efetividade das vacinas nesta população é um evento já constatado na literatura há longa data.

Foi realizada uma metanálise para se verificar a taxa de resposta à vacina contra hepatite A em pacientes infectados pelo HIV, realizada a partir de oito estudos, totalizando 458 pacientes. Os resultados indicaram que a taxa média de resposta entre a população infectada pelo HIV foi de apenas 64%, pela análise por intenção de tratar, isto é, todos os indivíduos foram considerados na análise (Shire et al, 2006).

Em outro estudo, a imunogenicidade da vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente foi avaliada em 57 ex-usuários de droga venosa infectados pelo HIV e 20 indivíduos não infectados. O percentual de indivíduos vacinados demonstrando soroconversão ou um aumento de duas vezes nos títulos de anticorpos antipneumocócicos foi maior na população não infectada pelo HIV quando comparada à população infectada (Amendola et al., 2002).

Diversos fatores podem estar relacionados com a pior resposta à vacina entre os indivíduos infectados pelo HIV. Entre os fatores já reconhecidos destacam-se o nível de linfócitos T-CD4+ (Miiro et al., 2005; Kemper et al., 2003. Iorio et al., 1997) e a quantificação do nível plasmático de RNA do HIV

(Abzug et al., 2006, Bongiovanni et al., 2008), ambos marcadores laboratoriais que predizem a progressão da doença pelo HIV (Giorgi et al., 2002).

Estudos demonstram que em indivíduos infectados pelo HIV com contagem de LT-CD4+ baixa ocorre uma pior resposta à vacinação (Benne et al., 1998; Kronn et al., 2000; Fabbiani et al., 2011). Por outro lado, indivíduos com contagem de LT-CD4+ mais elevada possuem taxa de soroconversão pós-vacinal maior (Ungulkraiwit et al., 2007), chegando, em alguns casos, a se assemelhar à população não infectada pelo HIV (Wallace et al., 2004).

Outro fator relevante na resposta vacinal é a quantificação plasmática de HIV. Em indivíduos com alta viremia plasmática, as células B são defeituosas na sua resposta proliferativa a vários estímulos (Moir et al., 2001). Segundo Jacobson e colaboradores (2002), mesmo com o uso da terapia antirretroviral combinada (TARV), ainda podem permanecer alterações funcionais nas células B.

Já Guillou-Guillemette e colaboradores (2006) observaram um aumento precoce na população de células B, em indivíduos com estágios avançados da infecção por HIV, após o início da TARV. Isto poderia ser uma consequência da melhora ocorrida no sistema imune, afetando particularmente as células B (CD 27), podendo levar a um aumento na produção de anticorpos.

A vacina contra influenza demonstrou ser imunogênica na maioria das crianças infectadas pelo HIV recebendo TARV (Tanzi et al., 2006). Em outro estudo, indivíduos infectados pelo HIV em uso de TARV, com contagem elevada de LT-CD4+ e carga viral indetectável, a vacina contra influenza (H1N1) induziu a uma alta proporção de soroproteção, semelhante à encontrada no grupo controle (Soonawala et al., 2011).

Lange e colaboradores (2002) descrevem que pacientes infectados pelo HIV, após a supressão da replicação viral com o uso da TARV, apresentam um aumento substancial na contagem de LT-CD4+, e possuem uma menor ativação de linfócitos e uma função imune semelhante a de pacientes não tratados com contagem similar de LT-CD4+. Nota-se que pacientes não respondedores à vacinação podem reagir a uma vacina subsequente caso apresentem elevação na contagem de linfócitos T-CD4+ após a instituição da TARV (Laurence, 2005).

Contudo, há relatos que mesmo após a elevação da contagem de linfócitos T-CD4+, observada com a TARV, uma grande proporção de indivíduos infectados pelo HIV permanece incapaz de manter níveis de anticorpos antivirais (Abs) após a vacinação (Cagigi et al., 2008). Isto pode ser explicado pelo nadir de LT-CD4+ antes do início da TARV, preditor reconhecido da resposta imune à vacinação (Subramaniam et al., 2003), mesmo em indivíduos com contagem de LT-CD4+ normalizada e carga viral indetectável (Lange et al., 2003).

Neste contexto, existem algumas estratégias a serem consideradas como forma de aumentar a resposta à vacinação nesta população. Rey e colaboradores (2000) demonstraram que ao dobrar o número de doses da vacina contra hepatite B, a taxa de resposta Anti-HBs melhora, contudo ressaltam a necessidade do monitoramento frequente deste anticorpo, em função de sua pequena durabilidade.

Além de uma possível pior resposta à vacinação encontrada na população infectada pelo HIV, deve-se ressaltar o risco de eventos adversos graves conseqüentes à vacinação. Principalmente quando se trata de vacinas

com vírus vivo existe o risco de disseminação da doença após a imunização. Em 1987, foi descrito um caso de um indivíduo infectado pelo HIV que após a vacinação contra varíola desenvolveu um quadro de disseminação da doença, assim como manifestações de AIDS (Redfield et al., 1987).

Entretanto, estudos posteriores sugerem que o uso de vacinas com agentes vivos foi bem tolerado e não houve relato de eventos adversos graves na população infectada pelo HIV (Armenian et al., 2006; Levin et al., 2006). Em geral, observa-se que a vacinação parece ser segura em indivíduos assintomáticos, sem imunodepressão grave (Weinberg et al., 2010).

Em um estudo realizado com pacientes infectados pelo HIV e um grupo controle foram observados somente eventos adversos leves e nenhum evento adverso grave, em ambas as populações, após a vacinação contra varicela (Bekker et al., 2006). Todavia, tratava-se de uma amostra da população infectada pelo HIV com contagem elevada de LT-CD4+ e baixa carga viral plasmática.

Deste modo, deve-se adiar a administração de vacinas em pacientes sintomáticos ou com imunodeficiência grave, com contagem de LT-CD4+ inferior a 200 células/mm³ (Tabela 1), até que um grau satisfatório de reconstituição imune seja obtido com o uso de terapia antirretroviral. Isto proporciona uma melhor resposta vacinal e a redução do risco de complicações pós-vacinais (Brasil, 2008).

Tabela 1: Parâmetros imunológicos para recomendação de imunização com vacinas de bactérias ou vírus vivos em pacientes infectados pelo HIV com mais de 13 anos.

Contagem de LT-CD4+ (cel/mm ³)	Recomendação para uso de vacinas com agentes vivo
>350	Indicar uso
200- 350	Avaliar parâmetros clínicos e risco epidemiológico
< 200	Não vacinar

Fonte: Brasil. Fundação Nacional de Saúde. Recomendações para vacinação em pessoas infectadas pelo HIV. Brasília: Ministério da Saúde, 2002

Para pacientes com imunodeficiência, a administração de vacinas com vírus vivos atenuados deve ser condicionada à análise individual de risco-benefício, e não deve ser realizada em casos de imunodepressão grave (MS, Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais, 2006).

Assim, percebe-se que pacientes infectados pelo HIV podem apresentar uma resposta à vacinação reduzida. Estes pacientes poderiam se beneficiar com doses maiores e reforços mais freqüentes. Além disso, a menor taxa de resposta e sua durabilidade podem exigir o uso mais freqüente de testes sorológicos, quando comparados à população em geral, como forma de determinar o nível de anticorpos após a vacinação e guiar a necessidade de reforço (Geretti et al., 2008).

1.4. Imunização contra Febre Amarela em pacientes com HIV/aids

O Ministério da Saúde do Brasil (Brasil, 2008) considera que a vacina para febre amarela não tem eficácia e segurança estabelecidas para pacientes portadores do HIV. Deste modo, a vacina pode ser recomendada levando-se em consideração a condição imunológica do paciente e a situação epidemiológica local. Pacientes adultos infectados pelo HIV, com contagem de LT-CD4+ maior ou igual a 350 células, que residam ou se dirijam para áreas consideradas de alto risco, tem indicação de receber a vacina para febre amarela (Tabela 2).

As áreas consideradas de alto risco para infecção pelo vírus amarílico são as regiões nas quais já foram confirmados casos autóctones de febre amarela silvestre. Contudo, esta definição é dinâmica e depende não apenas da presença de vetores, como também de reservatórios silvestres do vírus, como primatas não humanos (Brasil, 2002).

Tabela 2. Recomendações para vacinação contra febre amarela em adultos e crianças com 13 anos ou mais de idade infectados pelo HIV, de acordo com o número de linfócitos T CD4+ e regiões de risco.

LT-CD4+ (cel/mm ³)	Risco da Região		
	Alto risco	Médio risco	Baixo risco
>350	Indicar vacinação	Oferecer vacinação*	Não vacinar
200- 350	Oferecer vacinação	Não vacinar	Não vacinar
<200	Não vacinar	Não vacinar	Não vacinar

*O médico responsável pela decisão deverá explicar ao paciente o risco/benefício, levando em conta a possibilidade de não-resposta à vacina.

Fonte: Brasil. Fundação Nacional de Saúde. Recomendações para vacinação em pessoas infectadas pelo HIV. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2002.

Segundo o CDC (2010), pacientes adultos infectados pelo HIV, assintomáticos, com imunossupressão moderada, contagem de LT-CD4+ entre 200–499 cel/mm³, a administração da vacina contra febre amarela deve ser feita com precaução. Deste modo, a vacina só deve ser administrada caso a exposição à área endêmica seja inevitável.

Já de acordo com OMS (2011), devem-se evitar vacinas com vírus vivos em viajantes infectados pelo HIV. Contudo, a vacina contra febre amarela estaria indicada caso o risco do viajante infectado pelo HIV fosse significativamente alto e o mesmo possuísse contagem de linfócitos T-CD4+ superior a 200 cel/mm³.

Até o presente momento não houve grandes estudos prospectivos randomizados que avaliassem a eficácia da vacina contra febre amarela em pacientes infectados pelo HIV. Os estudos existentes resumem-se à descrição de relatos de casos ou estudos retrospectivos com pequenas séries, alguns destes não delineados para este fim.

Em relatos de casos de pacientes infectados pelo HIV, Receveur e colaboradores (2000) demonstraram resultados favoráveis em termos de eficácia à vacina para febre amarela. Entretanto, os pacientes investigados apresentavam boa função imune, avaliada pela contagem de LT-CD4+ e ausência de sinais de progressão da doença.

Em um estudo retrospectivo com pacientes infectados pelo HIV também foi observada uma boa resposta imunológica à vacina contra febre amarela (Tattevin et al., 2004). Neste estudo, todos os pacientes analisados apresentaram anticorpos protetores após a vacinação contra a febre amarela. Ressalta-se que alguns dos pacientes analisados já haviam apresentado

manifestação de AIDS, apesar de estarem com contagem de LT-CD4+ satisfatória.

Já Sibailly e colaboradores (1997) relataram uma baixa resposta à vacina contra febre amarela em crianças infectadas pelo HIV, em um estudo realizado na Costa do Marfim. Apenas uma pequena porcentagem das crianças infectadas pelo HIV apresentou títulos de anticorpos protetores pós-vacinação. Contudo, os autores ressaltam que o estudo apresentava grandes limitações, como por exemplo, não haver sido realizado especificamente para avaliação da resposta vacinal contra febre amarela.

Em um estudo realizado no Distrito Federal e em Goiás, Brasil, os pacientes infectados pelo HIV tiveram uma pior resposta à vacinação contra febre amarela, quando comparados a indivíduos não infectados. Apenas uma pequena parcela do grupo infectado pelo HIV analisado apresentou resposta imune protetora. (Polcheira et al., 2005). Observou-se que indivíduos que não apresentavam resposta imune protetora, após a melhora na contagem de LT-CD4+, aumentaram o título de anticorpos neutralizantes para faixa protetora (Tauil, 2009, comunicação pessoal)

Em um estudo retrospectivo com pacientes infectados pelo HIV foi relatada uma alta taxa de soroconversão após a vacinação em pacientes sem imunidade prévia para febre amarela (Pistone et al., 2010). Entretanto, a imunogenicidade à vacina apareceu lentamente.

Em uma coorte suíça, pacientes infectados pelo HIV com alta contagem de LT-CD4+ apresentaram uma menor resposta protetora quando comparados a um grupo controle. Além disso, o estudo também demonstrou que pacientes

que inicialmente apresentavam anticorpos neutralizantes protetores, perderam estes anticorpos pouco tempo depois da vacinação (Veit et al., 2009).

Em função da vacinação contra febre amarela em pacientes infectados pelo HIV ser potencialmente menos efetiva que na população não infectada pelo HIV, o CDC recomenda que seja feita a mensuração de anticorpos neutralizantes para avaliação da resposta vacinal antes de exposição à área endêmica.

Os dados sobre a segurança da VFA em pacientes infectados pelo HIV são escassos. Bhadelia e colaboradores (2007) advertem que pacientes com doença pelo HIV em estágios avançados estão sob risco de complicações potencialmente fatais relacionadas à vacinação contra febre amarela, incluindo doenças viscerotrópicas e neurotrópicas, e não deveriam receber a vacina.

Em um relato de caso, Kengsakul e colaboradores (1997) descreveram um episódio de meningoencefalite fulminante e fatal após a vacinação para febre amarela em um indivíduo saudável, sem relato de condição imunossupressora prévia. Posteriormente, foi descoberto que se tratava de uma pessoa infectada pelo HIV, assintomática, porém com baixa contagem de LT-CD4+ e carga viral elevada.

Contudo, em pacientes infectados pelo HIV com contagem de linfócitos T-CD4+ superior a 200 cel/mm³, estudos relatam boa tolerância à vacina e incidência de eventos adversos semelhantes aos encontrados na população não infectada pelo HIV (Receuver et al., 2000; Tattevin et al., 2004; Veit et al., 2009).

Deste modo, a vacina permanece contra-indicada para pessoas com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) ou outras manifestações do

HIV, incluindo pessoas com contagem de LT-CD4+ inferior a 200cel/mm³ (Brasil2008, OMS 2011, CDC 2010). Adverte-se que pacientes em uso de terapia antirretroviral que contenham inibidor de CCR5, apesar de já terem restabelecido sua função imune, podem estar sob risco aumentado de eventos adversos graves (Pulendran et al., 2008; Conesa-Botella et al., 2009).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a resposta imune protetora à vacina contra febre amarela por meio da dosagem de anticorpos neutralizantes contra a FA em pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) acompanhadas no ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitária do Hospital Universitário de Brasília no Distrito Federal, no período de abril de 2009 a outubro de 2010.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1 Verificar a existência de associação entre os níveis protetores de anticorpos neutralizantes contra a febre amarela e a contagem de LT-CD4+ em PVHA.

2.2.2 Verificar a existência de associação entre os níveis protetores de anticorpos neutralizantes contra a febre amarela e a carga viral plasmática de HIV em PVHA.

2.2.3 Verificar a existência de outros possíveis fatores preditivos da resposta adequada à vacina da febre amarela em PVHA.

3. METODOLOGIA

3.1. Delineamento do Estudo

Estudo observacional e transversal em PVHA vacinadas contra febre amarela, sem relato de história prévia de infecção natural pelo vírus amarelo, atendidas no ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário de Brasília, realizado de abril de 2009 a outubro de 2010.

3.2. Local do Estudo

O estudo foi desenvolvido no Hospital Universitário de Brasília (HUB), hospital de excelência, acreditado para cuidados de média e alta complexidade, de ensino e pesquisa, localizado em Brasília, Distrito Federal, Brasil. O hospital possui um serviço que realiza acompanhamento ambulatorial e hospitalar de pacientes com doenças infecciosas e parasitárias. Constam no serviço 519 pacientes infectados pelo HIV em acompanhamento regular.

O estudo foi realizado em parceria com o Instituto Evandro Chagas (IEC), centro de referência para doenças infecciosas tropicais, localizado em Belém, Pará, Brasil. Na Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas deste Instituto foi realizada a dosagem da concentração sérica de anticorpos neutralizantes contra febre amarela.

A análise dos níveis de LTCD4+ e a quantificação viral plasmática do HIV (RNA viral plasmático do HIV-1) foram realizadas no Laboratório Central de Saúde Pública, da Secretaria de Saúde do Governo do Distrito Federal (LACEN-DF). O LACEN-DF é um órgão vinculado à Subsecretaria de Vigilância à Saúde e tem como objetivo realizar atividades de vigilância sanitária e epidemiológica. Este laboratório realiza periodicamente exames de quantificação de LT-CD4+ e carga viral plasmática para todos os pacientes infectados pelo HIV acompanhados no HUB.

3.3. Critérios de Inclusão

Foram incluídas na pesquisa pessoas vivendo com HIV/aids atendidas no ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HUB e que foram vacinadas contra febre amarela há mais de 30 dias e há menos de 10 anos, em uso ou não de terapia antirretroviral combinada (TARV), sem relato de história prévia de infecção natural pelo vírus amarelo, e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1).

3.4. Critérios de Exclusão

Foram excluídos da pesquisa pacientes sem diagnóstico de infecção pelo HIV, gestantes, menores de 18 anos, não vacinados contra febre amarela ou vacinados em um período inferior a 30 dias ou superior a 10 anos, com relato prévio de infecção pelo vírus amarelo ou que não concordaram em participar da pesquisa.

3.5. Amostra

Foram convidados a participar da pesquisa 300 pacientes. Destes, 178 não preenchiam os critérios de inclusão. Dos 119 pacientes que preenchiam os critérios de inclusão, 107 aceitaram participar da pesquisa e assinaram o TCLE, contudo apenas 58 pacientes coletaram os exames laboratoriais.

3.6. Variáveis do Estudo

O estudo analisou como variáveis consideradas independentes o número de linfócitos T-CD4+ e o nível de carga viral para o HIV. Os dados da variável contagem de linfócitos T-CD4+ foram classificados nas seguintes categorias: contagem de linfócitos T-CD4+ inferior a 200 células/mm³, igual ou superior a 200 células/mm³ e inferior a 350 células/mm³ e igual ou superior a 350 células/mm³. Os dados da variável carga viral foram dicotomizados em carga viral detectável (maior ou igual a 50 cópias/ml) e carga viral indetectável (menor que 50 cópias/ml).

A variável considerada dependente da pesquisa foi o nível de anticorpos neutralizantes contra febre amarela, classificado como, nível protetor ($\geq 1:10$) e nível não protetor ($<1:10$) (Niedrig et al., 1999 e Vasconcelos et al., 2001).

Para o estudo foram coletadas informações referentes às características epidemiológicas dos pacientes (idade, gênero, naturalidade, categoria de exposição ao HIV- classificada como heterossexual, homossexual, usuário de

drogas injetáveis, transfusional, vertical e ignorada) e às características clínico-laboratoriais (categoria clínica de classificação de HIV segundo CDC, coinfeção com Hepatite B e C, história prévia de infecção oportunistas (IO), tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV, uso de terapia antirretroviral combinada (TARV), uso de TARV com inibidor de protease (IP), nadir de LT-CD4+). As categorias clínicas de classificação são descritas como: (A) assintomática, infecção primária ou aguda pelo HIV ou linfadenopatia persistente generalizada; (B) condições sintomáticas, não incluídas na categoria A ou C e; (C) doenças definidoras de AIDS (CDC, 2008; Anexo 1). Foram também coletadas informações referentes à vacinação contra febre amarela (ano da última dose da vacina, uso de mais de uma dose da vacina, referência a ocorrência de eventos adversos). Os eventos adversos foram classificados como graves e não graves. Classificaram-se como eventos adversos graves aqueles que determinaram hospitalização, disfunção significativa, risco de morte ou óbito (Brasil, 2005).

3.7. Procedimentos do Estudo

3.7.1. Triagem dos Pacientes

A triagem de pacientes foi realizada no ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias, no atendimento de pessoas que vivem com HIV/aids. Após a consulta com o médico assistente, o pesquisador responsável convidava o paciente a participar da pesquisa, caso este declarasse história prévia de vacinação contra febre amarela ou apresentasse documento comprovando-a. Para ser incluído, não poderia haver relato de infecção pregressa de febre amarela. Neste momento, por meio de entrevista

estruturada, eram colhidas informações epidemiológicas e clínico-laboratoriais dos pacientes e registradas em questionário individual (Apêndice 2). As informações eram complementadas pela revisão de registros em prontuário médico.

Após o término da entrevista, era entregue ao paciente a solicitação do exame para avaliação do nível de anticorpos neutralizantes contra febre amarela. A coleta do sangue para o procedimento da pesquisa era feita concomitantemente à coleta de amostra para a contagem dos níveis de linfócitos T-CD4+ e carga viral para o HIV, exames realizados de rotina no seguimento de PVHA.

3.7.2. Coleta e Transporte de Exames Laboratoriais

Todo material para exames foi coletado dentro das dependências do Centro de Pesquisa Clínica do HUB. Antes da coleta, todos os tubos que armazenariam as amostras de sangue foram identificados, incluindo informações como iniciais do nome e sobrenome do paciente, número de identificação, data e hora da coleta. A coleta foi realizada no período da manhã entre as 7 e 8 horas, após um jejum de 8 horas, de segunda a quinta-feira. Durante todo o procedimento de coleta, os funcionários utilizaram equipamentos de proteção individual.

Para a quantificação de LT-CD4+ foram coletadas amostras de 5 ml de sangue total por venopunção, utilizando tubos estéreis de coleta a vácuo contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamonotetracético) K2 ou K3. As

amostras foram enviadas no mesmo dia para o Laboratório Central da Secretaria de Saúde do Governo do Distrito Federal (LACEN-DF) para serem processadas em menos de 24 horas. O envio foi feito em caixas de transporte de material biológico, em temperatura ambiente entre 20 e 25°C.

Para a quantificação do RNA viral do HIV-1 foram coletadas amostras de 5 ml de sangue total por venopunção, utilizando tubos estéreis de coleta a vácuo contendo anticoagulante EDTA (K3 0,15% sol. V/V final). Após a coleta, o material era submetido a um processo de centrifugação a 1000 Xg durante 15 minutos e o plasma armazenado em tubos estéreis, livres de RNAses e DNAses. As amostras eram mantidas em temperatura entre 2-8° C, até o envio para o LACEN-DF. O transporte era feito no mesmo dia em caixas térmicas de transporte de material biológico contendo barras de gelo seco.

Para a mensuração do nível de anticorpos neutralizantes contra febre amarela foram coletadas amostras de 5 ml de sangue total por venopunção, utilizando tubos estéreis de coleta a vácuo contendo anticoagulante EDTA. Após a coleta, o sangue era centrifugado e o soro armazenado em câmara refrigeradora, mantido a temperatura entre 0 e 5° C, no Núcleo de Medicina Tropical, do HUB. Periodicamente enviou-se este material para o IEC, no Pará.

O envio do material obedeceu às diretrizes expressas na Lei nº 10205, de 21 de março de 2001, que regulamenta o § 4º do art. 199 da Constituição Federal Brasileira, relativo à coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue, seus componentes e derivados e na Resolução – RDC/ANVISA nº 153, de 14 de junho de 2004, que determina os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a

testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue e seus componentes.

3.7.3. Processamento de Exames Laboratoriais

3.7.3.1. Quantificação de Linfócitos T-CD4+

A contagem de LT-CD4+ foi realizada por meio da citometria de fluxo, utilizando o equipamento FACSCalibur da Becton Dickinson (BD). A citometria de fluxo é uma tecnologia que permite a contagem, a identificação e a classificação de uma célula quanto ao tamanho, granulosidade e intensidade de fluorescência. Para obter estas informações, o citômetro de fluxo se utiliza de três sistemas: fluido, óptico, e eletrônico.

O sistema de fluido é necessário para que ocorra o alinhamento das células no momento em que serão interceptadas pela luz do *laser*. O sistema óptico contém a fonte de luz do laser, filtros e detectores que geram e captam a luz proveniente das células. Com essas duas informações geradas pela refração de luz podem-se determinar as diferentes populações sanguíneas, pois os linfócitos são células menores e menos granulosas, seguidas pelos monócitos e enfim pelos granulócitos que são as maiores e mais granulosas.

Além do tamanho e da granulosidade, o citômetro de fluxo é capaz de detectar diferentes cores de luz e é justamente desta maneira que a identificação e a quantificação das populações de linfócitos T são realizadas.

A identificação e quantificação das populações de linfócitos T acontecem pela marcação de moléculas expressas na superfície (CD) por anticorpos

monoclonais. Os anticorpos monoclonais são específicos e reconhecem uma única molécula expressa na célula, desta maneira um anticorpo monoclonal anti-CD4 só reconhecerá a molécula CD4.

Procedimentos seguidos para preparo das amostras:

1. Identificar os tubos BD Trucount com o número de identificação da amostra.
2. Pipetar 20 µl do reagente BD Multitest utilizando a pipeta P20 e uma ponteira de 20-200 µl sem filtro. Dispensar o volume no fundo do tubo.
3. Dispensar 50 µl de sangue total homogeneizado imediatamente acima da grade de metal.
4. Tampar o tubo e colocar no vórtex em baixa velocidade para homogeneizar a amostra.
5. Incubar por 15 minutos no escuro a temperatura ambiente (20-25⁰C).
6. Adicionar ao tubo 450 µl de solução de lise diluída 1:10 em água destilada.
7. Incubar por 15 minutos no escuro a temperatura ambiente (20-25⁰C).
A amostra agora está pronta para ser analisada no citômetro de fluxo. (Barros et col., 2008)

3.7.3.2. Quantificação da Carga Viral Plasmática de HIV

A quantificação da carga viral do HIV foi realizada por meio da metodologia *branched-DNA* (b-DNA), utilizando-se como produto Versant HIV-1 RNA 3.0 Assay (Siemens). A tecnologia do *branched DNA* é um ensaio de hibridização em fase sólida tipo sanduiche de ácidos nucleicos usando moléculas de DNA ramificadas (bDNA).

A amostra é tratada com reagente de lise e o material nucléico do vírus liberado é então hibridado em solução usando dois conjuntos de sondas oligonucleotídeas. Uma das sondas serve como sonda de captura (localizada na superfície dos poços da placa) que híbrida especificamente com o RNA do HIV e faz com que o RNA do HIV fique ligado à placa. A segunda sonda serve para fixar o RNA do HIV à placa e também para hibridar com outro conjunto de sondas: pré-amplificadora e amplificadora (bDNA), a essa última se atribui a função de aumentar o nível de sinal da hibridação.

As moléculas de bDNA atuam como amplificadoras por se ligarem a uma sonda marcada com fosfatase alcalina. Desta maneira, o sinal gerado pelo complexo HIV RNA-sonda é amplificado para detecção e quantificação do RNA viral. Finalmente, a adição de um substrato quimioluminescente reage com a última sonda e o sinal é lido em um luminômetro. A unidade relativa de luz (RLU) gerada é proporcional à quantidade de RNA do HIV na amostra.

As cópias de RNA do HIV são calculadas usando uma curva padrão gerada por um conjunto de seis calibradores e três controles HIV externos. A

faixa de detecção de 50 a 500.000 cópias/mL apresenta linearidade em todo o intervalo. O bDNA é um ensaio overnight. (Souza et al., 2007)

3.7.3.3. Mensuração de anticorpos neutralizantes contra febre amarela

Para avaliação do nível de anticorpos protetores contra febre amarela foi usado o teste de neutralização em placas redutoras (PNRT), considerado o exame mais sensível para este fim. Apesar de a imunofluorescência indireta apresentar uma especificidade maior, quando comparada ao PNRT, apresenta uma sensibilidade extremamente baixa, tornando seu uso insatisfatório. (Niedrig et al., 1999).

As amostras sorológicas foram processadas usando a técnica descrita pelo Protocolo da FIOCRUZ e Stefano e colaboradores (1999) com pequenas modificações e executadas em microplacas de culturas de células VERO.

As etapas executadas foram:

- Em uma placa de 96 orifícios foram colocados 80 μ L de meio de cultura 199 de manutenção na fila H1 a H 11 e 50 μ L do mesmo meio no restante da placa.
- Cada placa de 96 orifícios é suficiente para o teste de 10 soros, um soro controle e um controle de vírus.
- Colocados 20 μ L de soro teste em cada um dos orifícios contendo 80 μ L de meio diluente, obtendo-se uma diluição do soro de 1:5.
- Colocados 20 μ L de soro controle no orifício H 11.

- Reservada a coluna 12 para o controle de vírus.

- Com uma pipeta multicanal proceder à diluição dos soros, transferindo 50 µL dos soros 1:5 (H 1-H 11) dos orifícios da linha H para os orifícios da linha G, em seguida transferir 50 µL dos orifícios da linha G para a F e assim por diante até a linha A, descartando 50 µL da última diluição. A coluna do controle de vírus não é diluída.

- Diluído o vírus da Febre Amarela a uma concentração tal que se obtenha 20 placas de lise após incubação por 7 dias a 37 °C em estufa de CO₂ (passo a parte)

- Acrescentados 50 µL do vírus diluído em todos os orifícios da placa para que ocorra a neutralização viral.

- Incubada a placa por 1 hora à temperatura ambiente para que ocorra a neutralização viral (fluxo escuro).

- Após este tempo foram acrescentados 50 µL de uma suspensão de células VERO a uma concentração de $1,6 \times 10^6$ células/mL em toda a placa.

- Incubados a 37 °C por 3 horas até que as células estejam aderidas à placa

- Descartado o meio de cultura da placa por inversão vigorosa em um recipiente e em seguida batendo em papel toalha.

- Com o fluxo desligado adicionados 100 µL de meio de cultura contendo 3 % de carboximetilcelulose (CMC) com ponteiros de ponta cortada pois o CMC é muito viscoso.

- Incubada a placa por 7 dias a 37 °C em estufa com 5 % de CO₂.

- Após 7 dias fixadas as células da placa adicionando 150 μ L de formaldeído a 10 % durante 1 hora (temperatura ambiente).
- Lavadas extensivamente com água da torneira para retirar o CMC, em seguida deixar a placa cheia com água da torneira repousando por mais 1 hora.
- Coradas por 2-3 horas com cristal violeta a 0,04 %, adicionando 150 μ L do corante em cada orifício.
- Lavadas em água corrente e secar na estufa ou a temperatura ambiente.

Cálculo:

Calculada a média aritmética de todas as placas de lise obtidas no controle de vírus, calcular o *end-point* relativo a 50% do número de placas de lise do controle de vírus, ou seja, dividir o valor da média aritmética do controle de vírus por 2 para se encontrar o ponto final do teste, considerando como sendo 50 %.

Foi feita a contagem de todas as placas de lise obtidas nos soros.

Com os valores obtidos nos soros, foi feita uma regressão linear, usando o par nº de placas de lise/diluição imediatamente superior e imediatamente inferior ao *end-point* e achar a diluição correspondente ao “*end point*” do teste. Este será o valor do nível de anticorpos presentes no soro, que poderá ser expresso como a recíproca da diluição ou caso exista um soro padrão corrigido por referência internacional, pode ser expresso por Unidades Internacionais (UI).

Todas as amostras de soros foram confrontadas com o vírus da febre amarela (YFV), sendo utilizado como controle positivo o Fluido Ascítico Hiperimune (FAI) (IEC/SVS/MS, Brasil)

3.8. Análise Estatística

A partir dos dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais dos pacientes incluídos neste estudo, elaborou-se um banco de dados nos programas *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 13.0 e no R versão 2.13.0. Para avaliar a relação entre variáveis qualitativas foi utilizado o teste Exato de *Fisher* e para comparar grupos com respeito a uma variável quantitativa foram utilizados os testes *T-Student* para amostras independentes (Paramétrico) e *Mann-Whitney* (Não paramétrico). Também foi utilizado o teste de *Spearman* para avaliar a correlação entre variáveis quantitativas. Adotou-se para todos os testes um nível de significância de $p= 0,05$.

3.9. Considerações Éticas

O estudo seguiu rigorosamente as normas estabelecidas pela Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196/96 que dispõe sobre normas de pesquisa envolvendo seres humanos. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Brasília, CEP-FM 067/2008 (Anexo 2). No momento da inclusão do voluntário no projeto, foi assinado o TCLE e o paciente codificado por um número, de tal modo que sua

identidade somente fosse conhecida pelos pesquisadores. Os dados clínicos, laboratoriais e epidemiológicos foram tratados com a mesma confidencialidade prevista nas relações éticas da prática médica.

4. RESULTADOS

Foram convidados a participar da pesquisa 300 pacientes infectados pelo HIV do ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HUB. Dos 119 pacientes que preenchiam os critérios de inclusão, 107 aceitaram participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Destes, apenas 58 pacientes compareceram ao Centro de Pesquisas Clínicas para coleta dos exames laboratoriais (Figura 2).

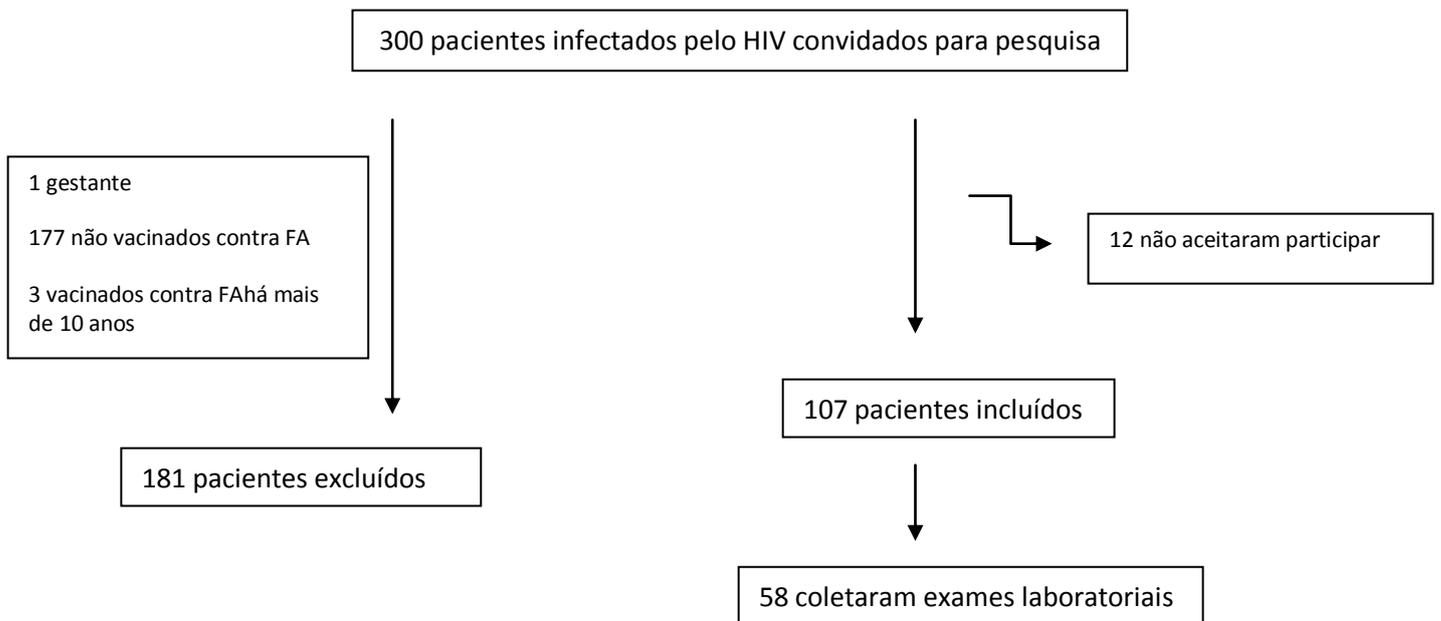


Figura 2. Diagrama de inclusão de pacientes na pesquisa clínica.

Entre os 58 pacientes participantes da pesquisa, a idade média foi 41 anos, a maioria do sexo masculino (55%), a dislipidemia foi a principal comorbidade encontrada, presente em 19 indivíduos, seguida pela hipertensão em 8 pacientes. Foram também encontrados 9 casos de coinfeção com hepatite B e 3 casos com Hepatite C.

A categoria de exposição ao HIV predominante foi relação heterossexual, representando 65% dos casos, seguida pela relação homossexual (homens que fazem sexo com homens) em 12% dos casos, ressalta-se que não foi descrito nenhum caso de exposição por uso de drogas venosas. A média, em anos, de infecção diagnosticada pelo HIV foi 8 e a maioria dos pacientes (78%) no momento da inclusão da pesquisa apresentava-se na categoria clínica A de classificação do CDC e 93% dos participantes estavam em uso de TARV.

Apresentavam relato de infecção oportunista (IO) no passado 28 pacientes, sendo a pneumocistose a principal (17%), seguida pela candidíase e infecção pelo vírus Herpes Zoster, ambas representando 12% dos relatos. A média do nadir de LT-CD4+ foi 214 cel/mm³, com desvio padrão de 167 cel/mm³.

A média, em anos, da última dose recebida para a vacina contra febre amarela foi 2 e a mediana 1 ano, com amplitude variando entre 0 e 10 anos. Relataram ter recebido mais de uma dose da vacina 45% dos pacientes investigados. Apenas 3% dos pacientes descreveram a ocorrência de eventos adversos relacionados à administração da vacina, em nenhum dos casos tratou-se de evento grave (Tabela 3).

Tabela 3. Características de base dos pacientes infectados pelo HIV previamente imunizados pela vacina contra febre amarela incluídos na pesquisa

Características	Pacientes (61)
Idade – anos	
Média e Dp	41 ± 9
Mediana	40
Intervalo	24-59
Sexo – n (%)	
Masculino	32 (55%)
Feminino	26 (45%)
Comorbidades - n (%)	
HAS	8 (14%)
Dislipdemia	19 (33%)
Diabetes Mellitus	3 (5%)
Obesidade	2 (3%)
Outras	21 (36%)
Coinfecção com Hepatites - n (%)	
Hepatite B	9 (15%)
Hepatite C	3 (5%)
Categoria de exposição ao HIV n (%)	
Relação heterossexual	38 (65%)
Relação homossexual	7 (12%)
Outras	13 (23%)
Tempo de diagnóstico do HIV - anos	
Média e Dp	8 ± 5
Intervalo	1 - 22
Categoria clínica (CDC)- n (%)	
A	45 (78%)
B	10 (17%)
C	3 (5%)
Uso de TARV - n (%)	
Esquemas sem IP/r	35 (60%)
Esquemas com IP/r	19 (33%)

IO prévia -n (%)	
Passado de IO	28 (48%)
Nadir de CD4 – cel/mm³	
Média e Dp	214 ± 167
Mediana	177
Intervalo	1 - 790
Data da vacina para Febre Amarela - anos	
Média e Dp	2 ± 3
Mediana	1
Intervalo	0 - 10
Reforço para vacina da Febre Amarela (VFA) - n (%)	
Mais de 1 dose	26 (45%)
Presença de eventos adversos à VFA - n (%)	
Eventos Leves	2 (3%)
Eventos Graves	0 (0%)

Foram colhidas 75 amostras clínicas para avaliação concomitante da contagem de LT-CD4+, carga viral plasmática do HIV e anticorpos neutralizantes contra febre amarela. Destas 58 correspondiam à primeira amostra, 16 amostras à segunda e 1 amostra à terceira.

Os resultados observados nas 58 primeiras amostras coletadas demonstraram média da contagem de LT-CD4+ de 472 cel/mm³ e a de carga viral 5.490 cop/ml. Em relação à resposta à vacina contra febre amarela, avaliada pelo PNRT, foram encontradas 53 amostras com nível protetor ($\geq 1:10$) e 5 com nível não protetor ($< 1:10$) de anticorpos neutralizantes, média da taxa de diluição do soro foi 1:121, e a média do índice logarítmico de neutralização (ILN) foi 1,9.

Entre as 16 segundas amostras coletadas a média de LT-CD4+ foi 510 cel/mm³, enquanto a de carga viral 4.867 cop/ml. Já em relação à resposta à vacina foram encontradas 14 amostras (87,5%) com nível protetor e 2 com nível não protetor de anticorpos neutralizantes. A média da taxa de diluição do soro observada foi 1:219, e a média do ILN foi 2,0.

Houve apenas 1 terceira amostra, na qual contagem de LT-CD4+ foi 257 cel/mm³, de carga viral 105.856 cop/ml. Foi observado nível protetor em relação à resposta vacinal, com taxa de diluição do soro de 1:23, e ILN 1,3.

Compararam-se os resultados entre a primeira e segunda coleta, destes mesmos 16 indivíduos, das variáveis nível de carga viral, contagem de LT-CD4+, e resposta à vacina contra febre amarela categorizadas em: indetectável (< 50cop/mm³) e detectável (\geq 50cop/mm³); contagem de linfócitos T-CD4+ inferior a 200 células/mm³, de 200 células/mm³ a 349 células/mm³ e igual ou superior a 350 células/mm³, nível protetor (\geq 1:10) e não protetor (<1:10) de anticorpos neutralizantes, respectivamente.

Observou-se pouca alteração em relação à mudança de categoria de contagem de LT-CD4+, contudo em relação à carga viral nota-se que de nove pacientes que possuíam carga viral indetectável, dois passaram a apresentar viremia. Já de sete pacientes que apresentavam carga viral detectável, três se tornaram indetectáveis (Tabela 4 e 5).

Tabela 4. Comparação entre as variáveis categorizadas LT-CD4+ na primeira e segunda coleta de 16 pacientes infectados pelo HIV.

LT-CD4+ 1ª coleta	LT-CD4+ 2ª coleta			Total
	CD4 < 200	CD4 200-349	CD4 ≥ 350	
≤ 200	2	0	0	2
201 e 349	0	3	0	3
≥350	0	1	10	11
Total	2	4	10	16

Tabela 5. Comparação entre as variáveis categorizadas de Carga viral na primeira e segunda coleta de 16 pacientes infectados pelo HIV.

Carga Viral 1ª Coleta	Carga Viral 2ª coleta		Total
	<50	≥50	
<50	7	2	9
≥ 50	3	4	7
Total	10	6	16

Ao avaliar o nível de resposta à vacina contra febre amarela percebeu-se que um paciente que inicialmente teve como resultado níveis protetores de anticorpos neutralizantes perdeu esta resposta em um curto período de tempo. Os demais mantiveram a mesma resposta imune à vacina nas coletas subsequentes (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação entre o resultado da vacina contra febre amarela na primeira e segunda coleta de 16 pacientes infectados pelo HIV.

Resultado da Vacina 1ª coleta	Resultado da vacina 2ª coleta		Total
	protetor	não protetor	
Nível protetor	14	1	15
Nível não protetor	0	1	1
Total	14	2	16

Ao analisar este paciente que modificou sua resposta, observou-se que se tratava de um caso de transmissão vertical do HIV, nadir de LT-CD4+ extremamente baixo (12 cel/mm³). Além disso, foi registrada uma queda no nível de LT-CD4+ e aumento de carga viral concomitante à perda de resposta à vacina, que havia sido administrada apenas 2 anos antes.

Devido à grande perda de seguimento ocorrida durante a investigação, utilizou-se somente a primeira amostra colhida por cada paciente para analisar a associação entre resposta à vacina contra febre amarela e a contagem de LT-CD4+, carga viral do HIV e outros possíveis fatores preditivos da resposta. Considerando-se então as 58 primeiras amostras das quais 53 apresentavam níveis protetores de anticorpos neutralizantes, foi realizada uma comparação das médias de LT-CD4+ entre o grupo que apresentou níveis protetores ($\geq 1:10$)

e o grupo com níveis não protetores (<1:10) de anticorpos neutralizantes contra febre amarela. Observou-se que os dois grupos têm médias similares e distribuição semelhantes (Tabela 7).

Tabela 7. Comparação entre as médias de LT-CD4+ nos grupos com níveis protetores e não protetores de anticorpos neutralizantes contra febre amarela.

LT-CD4+	Resultado da vacina	
	Nível protetor	Nível não protetor
Média	473*	460*
Mediana	446**	520**
Desvio padrão	221	273
Percentil 25	340	204
Percentil 75	596	576

Valor-p do Teste T para amostras independentes = 0,90*

Valor-p do Teste Não paramétrico de Mann-Whitney= 0,99**

Ao analisar a relação entre a contagem de LT-CD4+ categorizada (<200, 200-349, ≥ 350 cels/mm³) e a resposta à vacina contra febre amarela, considerada como nível protetor ($\geq 1:10$) e nível não protetor (<1:10) de anticorpos neutralizantes, nota-se que os dois grupos comparados têm percentuais muito semelhantes para os níveis de LT-CD4+. Deste modo, não se observa associação estatisticamente significativa entre as variáveis, teste de Fisher $p > 0,05$ (Tabela 8).

Tabela 8. Comparação entre a contagem de LT-CD4+ categorizada nos grupos com níveis protetores e não protetores de anticorpos neutralizantes contra febre amarela.

Resultado da vacina			
LT-CD4+	Nível protetor	Nível não protetor	Total
≤ 200	3	1	4
	6%	20%	7%
201 a 349	11	1	12
	21%	20%	21%
≥350	39	3	42
	73%	60%	72%
Total	53	5	58
	100%	100%	100%

Valor-p do teste Exato de Fisher = 0,36

Foi realizada a comparação entre a média da carga viral plasmática, expressa em log, nos grupos com nível protetor e não protetor de anticorpos neutralizantes contra febre amarela (Tabela 9).

Tabela 9. Comparação entre as médias da carga viral (log) de HIV nos grupos com níveis protetores e não protetores de anticorpos neutralizantes contra febre amarela.

Carga viral (log)	Resultado da vacina	
	Nível protetor	Nível não protetor
Média	1,1*	2,4*
Desvio padrão	1,7	1,7
Percentil 25	0	2,1
Percentil 75	2,0	2,7

Valor-p do Teste T para amostras independentes (Variâncias iguais)= 0,17
 Valor-p do Teste Não paramétrico de Mann-Whitney= 0,05

Observou-se que o grupo que respondeu à vacina possuía média de carga viral inferior ao grupo que não respondeu. Uma vez que o teste de Mann-Whitney aponta um valor marginalmente significativo ($p=0,05$), pode existir associação entre as variáveis. Contudo, para uma avaliação mais segura seria recomendável o aumento do tamanho amostral.

Ao investigar a relação entre a carga viral de HIV, categorizada em indetectável (<50 cop/ml) e detectável (≥ 50 cópias/ml), e resposta à vacina contra febre amarela, considerada como nível protetor ($\geq 1:10$) e não protetor (<1:10), observou-se que o grupo que respondeu à vacina possuía uma proporção de indivíduos maior com carga viral indetectável. Novamente, o teste de Fisher apresenta valor marginalmente significativo ($p=0,06$), indicando a

possibilidade de associação entre as variáveis. Todavia, seria preciso uma amostra maior para confirmar esta relação (Tabela 10).

Tabela 10. Comparação entre a contagem de carga viral categorizada e os grupos com níveis protetores e não protetores de anticorpos neutralizantes contra febre amarela.

Resultado da vacina			
Carga viral	Nível protetor	Nível não protetor	Total
<50	35	1	36
	66%	20%	62,1%
≥50	18	4	22
	34%	80%	37,9%
Total	53	5	58
	100%	100%	100%

Valor-*p* do teste Exato de Fisher= 0,06

Para analisar a correlação entre a resposta à vacina contra febre amarela, dada pelo índice logaritmico de neutralização (ILN), e a contagem de LT-CD4+, como variável contínua, foi construído um gráfico de dispersão. Percebeu-se uma tendência ao aumento do ILN à medida em que se aumentou a contagem de linfócitos T-CD4+ (Figura 3). Esta correlação é fraca, coeficiente de *Spearman* de 0,27, contudo significativa (*p* = 0,03).

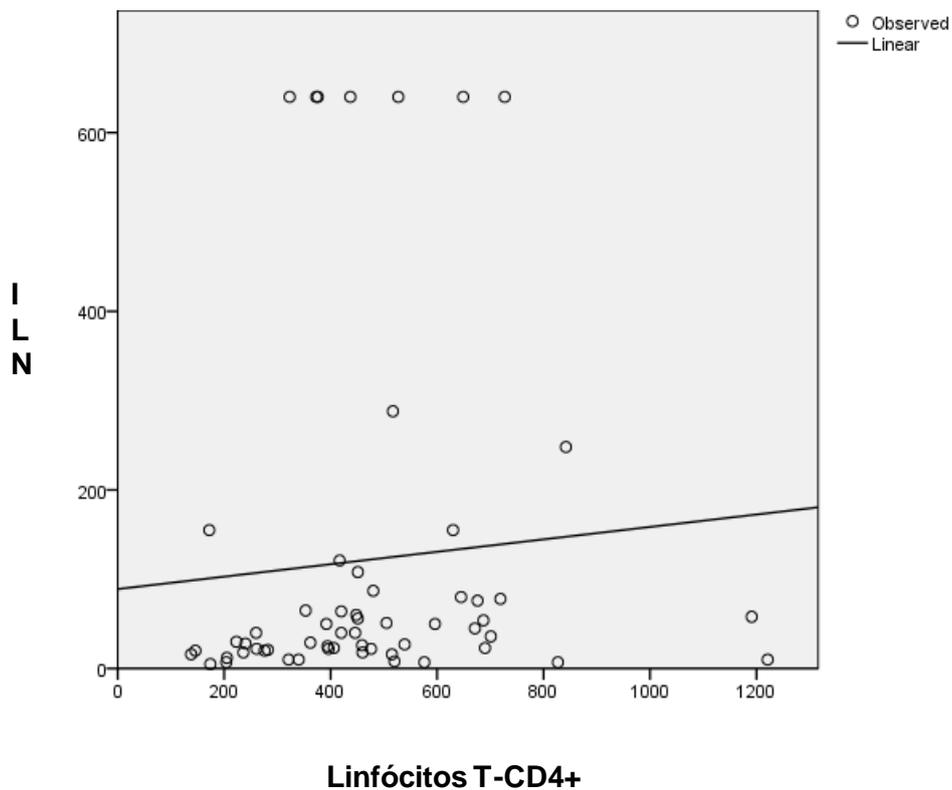


Figura 3. Correlação entre a magnitude da resposta à vacina contra febre amarela e a contagem de LT-CD4+ de pacientes infectados pelo HIV, representada em gráfico de dispersão. ILN- Índice logarítmico de neutralização.

Para analisar a correlação entre a contagem da carga viral de HIV, expressa em log, e a resposta à vacina contra febre amarela, dada pelo índice logarítmico de neutralização (ILN) foi construído um gráfico de dispersão (Figura 4) e calculado o coeficiente de correlação de *Spearman*. Deste modo,

observou-se que quando a carga viral aumentava, o ILN diminuía, demonstrando uma correlação negativa moderada e estatisticamente significativa ($r=0,41$, p-valor: $< 0,01$).

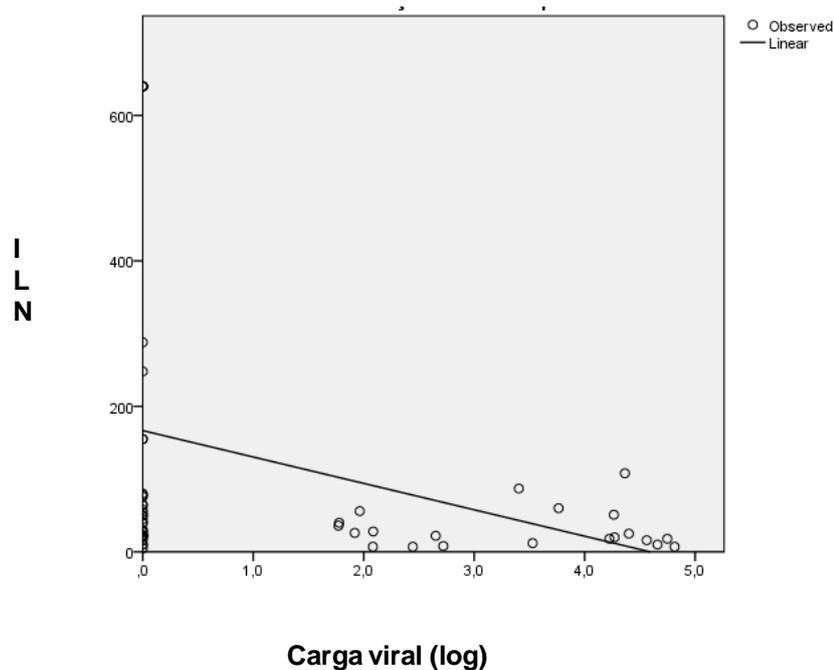


Figura 4. Correlação entre a magnitude da resposta à vacina contra febre amarela e a carga viral (log) de pacientes infectados pelo HIV , representada através do gráfico de dispersão. ILN- Índice logarítmico de neutralização

Diversos fatores foram avaliados quanto à sua relação com a resposta imune protetora (níveis de anticorpos neutralizantes $\geq 1:10$) e não protetora (níveis de anticorpos neutralizantes $< 1:10$) contra febre amarela. Observou-se uma tendência no grupo com níveis protetores de apresentarem-se mais na categoria clínica A de classificação do CDC, possuírem menos infecção

oportunista (IO) no passado e terem uma menor de tempo transcorrido desde a última dose da vacina, contudo isto não foi estatisticamente significativo (Tabela 11).

Tabela 11. Fatores potencialmente associados com a resposta à vacina contra febre amarela em pacientes infectados pelo HIV.

	Nível protetor n=53	Nível não protetor n= 5	p valor
Idade - anos			
Média e DP	41± 9	35± 10	0,18 *
			0,17 **
Sexo masculino - n (%)	30 (57%)	2 (40%)	0,4 ***
CDC - n (%)			0,3 ***
A	42 (80%)	3 (60%)	
B e C	11 (20%)	2 (40%)	
Comorbidade - n (%)	30 (57%)	3 (60%)	0,63***
Coinfecção com HV – n (%)	11 (21%)	1 (20%)	0,72***
Uso de TARV - n (%)	49 (92%)	5 (100%)	0,62***
Passado de IO - n (%)	25 (47%)	3 (60%)	0,46***
nadir de CD4+ - cel/mm³			
Média e DP	209 ± 164	264 ± 214	0,48*
			0,48**
Intervalo desde última dose - anos			
Media e DP	2 ± 2	5 ± 6	0,17 *
			0,57 **

* Teste *T- Student* para amostras independentes

** Teste Não paramétrico de *Mann-Whitney*=0,174

*** Teste de *Fisher*

5. Discussão

As diretrizes nacionais recomendam a vacina contra febre amarela para pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) que residam ou se dirijam para áreas de alto risco, respeitando-se a condição imunológica do indivíduo (MS, 2008). A região centro-oeste do país é classificada como área com indicação para imunização contra febre amarela (Brasil, 2009).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar se pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) residentes em Brasília, previamente imunizadas contra febre amarela, apresentavam nível satisfatório de proteção contra a doença. A resposta imune protetora foi avaliada pela mensuração de anticorpos neutralizantes, realizada pelo teste de neutralização em placas redutoras (PNRT), considerado o exame mais sensível para este fim. (Niedrig et al., 1999).

Foram analisados 58 indivíduos infectados pelo HIV, com idade média de 41 anos, a maioria pertencente a categoria clínica A de classificação do CDC e em uso de TARV, com tempo médio de infecção pelo HIV de 8 anos. Quase metade dos participantes já havia recebido mais de uma dose da vacina e, em média, a última dose havia sido administrada dois anos antes.

Foi constatado que 53 pacientes (91%) apresentavam níveis protetores de anticorpos neutralizantes na ocasião da primeira coleta. Esta resposta é inferior à encontrada na população em geral, na qual se observa quase 100% de imunidade nos indivíduos vacinados, após uma única dose (Galler et al., 2001).

Em indivíduos infectados pelo HIV, uma resposta imune protetora inferior após o uso de vacinas com vírus vivo já foi descrito anteriormente. Aurpibul e colaboradores (2006) observaram que em crianças infectadas pelo HIV, mesmo após a reconstituição imune com o uso da TARV, a prevalência de anticorpos contra o sarampo, em uma população previamente imunizada, foi de apenas 42%. Deste modo, quase metade da população permanecia susceptível à doença, apesar de vacinada.

A resposta à vacina contra febre amarela é pouco descrita na população infectada pelo HIV. Receveur e colaboradores (2000) em 2 relatos de casos observaram títulos protetores de anticorpos neutralizantes após a vacinação, contudo ambos pacientes apresentavam LT-CD4+ maior que 500 cel/mm^3 e ausência de sinais de progressão da doença. Uma resposta imune satisfatória também foi encontrada por Tattevin e colaboradores (2004) ao analisarem 12 pacientes infectados pelo HIV, cujos títulos médios de anticorpos neutralizantes foi 1:40, todavia a média de LT-CD4+ também era elevada, superior a 500 cel/mm^3 .

Já em um estudo realizado na Costa do Marfim, apenas 17% das crianças infectadas pelo HIV apresentaram títulos de anticorpos protetores após a vacinação para febre amarela, comparando-se a 74% do grupo controle (57 crianças não infectadas pelo HIV). Todavia, como não foi realizada a mensuração de LT-CD4+ das crianças estudadas, não foi possível relacionar a resposta à vacina ao grau de imunossupressão associado ao HIV (Sibally et al. 1997).

Neste estudo, a ocorrência de eventos adversos foi baixa, tendo sido relatada apenas por 2 (3%) pacientes, semelhante à descrita na população não

infectada pelo HIV (Monath, 2002), na qual a vacina é normalmente bem tolerada. Em todos os casos os eventos adversos foram leves e autolimitados, tais como febre, mialgia e mal estar, o que está de acordo com o observado nos trabalhos mais recentes nestes indivíduos (Veit et al., 2009).

A vacina permanece contra-indicada para pacientes com LT-CD4+ inferior a $200\text{cel}/\text{mm}^3$ (MS, 2008), eliminando-se em grande parte o temor de eventos adversos graves nesta população, como o descrito por Kengsakul e colaboradores (1997) que relataram a morte de um indivíduo de 53 anos, previamente hígido, que se descobriu depois tratar-se de um paciente infectado pelo HIV, com contagem de LT-CD4+ baixa ($108\text{ cel}/\text{mm}^3$)

Contudo, deve-se atentar para o fato de que em situações de vacinação em massa, como estratégias de vacinação de bloqueio, muitas vezes torna-se difícil identificar e respeitar as contra-indicações à vacina (Tauil, 2010). Isto ocorreu em Goiás e Distrito Federal durante o surto de 2000, no qual 12 pacientes infectados pelo HIV foram vacinados inadvertidamente (Polcheira et al., 2005).

A maioria dos participantes do presente estudo foi vacinada durante o surto ocorrido em 2008 no Distrito Federal, em alguns casos não se considerando a condição imunológica do paciente. Como o presente estudo foi de natureza transversal, a contagem de LT-CD4+ no momento da vacinação não foi analisada. Investigou-se então, a associação entre a resposta à vacina contra febre amarela e o nível de LT-CD4+, ambos avaliados em um mesmo momento.

Ao analisar a relação entre a contagem de LT-CD4+ categorizada (<200, 200-349, ≥ 350 cel/mm³) e a resposta à vacina contra febre amarela, não foi observada associação entre as variáveis, teste de Fisher $p > 0,05$. Todavia, foi possível observar uma correlação positiva fraca entre a contagem de LT-CD4+, expressa como variável contínua, e a resposta à vacina, coeficiente de *Spearman* 0,27 ($p = 0,03$). Veit e colaboradores (2009) também observaram uma melhor resposta à vacina naqueles que apresentavam contagem de LT-CD4+ mais elevada, quando avaliaram concomitantemente títulos de anticorpos neutralizantes e LT-CD4+.

Saksawad e colaboradores (2011) também encontram uma correlação significativa entre a contagem de LT-CD4+ e a resposta imune à vacinação. Após a vacinação contra Influenza A (H1N1), Fabbiani e colaboradores (2011) descreveram uma soroconversão de 100% naqueles indivíduos com contagem de LT-CD4+ superior a 300 cel/mm³. Já Kroon e colaboradores (2000) ao analisarem a resposta à vacina contra influenza em indivíduos infectados pelo HIV com contagem de LT-CD4+ inferior a 100 cel/mm³ relataram uma resposta imune muito prejudicada.

Esta relação não foi observada por Polcheira e colaboradores (2005) ao analisarem 12 pacientes infectados pelo HIV no Distrito Federal. Os mesmos relataram que dos 8 pacientes com contagem de LT-CD4+ superior a 200 cel/mm³ apenas 2 obtiveram resposta imune protetora contra febre amarela, concluindo desta forma que mesmo em pacientes com contagem de LT-CD4+ elevada, a resposta à vacina pode não estar presente.

Ao analisar a associação entre carga viral e resposta à vacina contra febre amarela no presente estudo, observou-se que o grupo que apresentou

níveis protetores de anticorpos neutralizantes possuía uma média menor de carga viral ($p=0,05$), e uma proporção maior de indivíduos com carga viral indetectável ($p=0,06$) comparando-se ao grupo não respondedor. Notou-se também que quanto menor a carga viral dos indivíduos, melhor a resposta à vacina ($r=-0,4$; $p<0,01$). O mesmo foi relatado por Veit e colaboradores (2009) ao analisarem simultaneamente carga viral e nível de anticorpos neutralizantes.

Estes achados são consistentes com o estudo de Moir e colaboradores (2001) que demonstrou que em pacientes infectados pelo HIV, defeitos na resposta proliferativa a estímulos nas células B *in vitro* são diretamente relacionados ao nível de replicação viral *in vivo*. Com isso, observaram que as células B de pacientes com alta viremia plasmática apresentavam importante comprometimento funcional quando comparadas às células B destes mesmos pacientes em momentos de baixa viremia plasmática.

Malaspina e colaboradores (2003) também sugeriram que as alterações observadas nas células B de pacientes infectados pelo HIV estão relacionadas à replicação viral. Ao investigarem a resposta à vacina contra hepatite B em indivíduos infectados pelo HIV, Bailey e colaboradores (2008) demonstraram inclusive que a viremia plasmática seria um melhor preditor da resposta vacinal quando comparada à contagem de LT-CD4+.

Lange e colaboradores (2002) também observaram que altos níveis de replicação viral prejudicam diretamente a resposta proliferativa a antígenos, contudo ressaltam que o mecanismo pelo qual a viremia diminui esta resposta ainda não é claro. Estes pesquisadores acreditam que este fato pode estar relacionado ao acúmulo de células reativas aos linfócitos T-CD4+ nos sítios de replicação viral localizados no tecido linfóide.

Desde a introdução da terapia antirretroviral combinada (TARV), capaz de suprimir eficazmente a replicação viral, ficou evidente que várias das anormalidades associadas à replicação viral, tais como a ativação celular, poderiam ser revertidas pela TARV, todavia algumas anormalidades, particularmente em células de memória, persistiam apesar de muitos anos de terapia antirretroviral eficaz (Moir et al., 2009)

No presente estudo, o uso de TARV não foi associado a uma melhor resposta à vacina contra febre amarela em pacientes infectados pelo HIV. Ressalta-se, contudo, que apenas 4 indivíduos incluídos no estudo não usavam TARV, tornando desta forma este grupo muito pequeno para comparações. Além disso, observa-se que 40% dos pacientes em uso de TARV não apresentavam carga viral indetectável. Deste modo, apesar de estarem em uso de TARV, a mesma não estava sendo eficaz em controlar a replicação viral.

O que se observou em crianças infectadas pelo HIV que receberam a vacina contra influenza é que apesar da TARV ser eficaz em controlar a replicação viral do HIV e aumentar a contagem de LT-CD4+, a resposta imune a antígenos permanecia incompleta, indicando que terapias adicionais poderiam ser necessárias para uma completa restauração da função imune (Montoya e colaboradores, 2007).

O que também deve ser considerado é que muitas vezes o início da TARV ocorre em um momento avançado da infecção. Com isso, segundo Pensieroso e colaboradores (2009), os pacientes tratados tardiamente, tanto os que conseguem controlar sua viremia como os que não conseguem, perdem a resposta imune protetora contra antígenos comuns utilizados para vacinação. Assim, o momento de início da TARV seria considerado o maior preditor da

longevidade da resposta das células B à vacinação em pacientes infectados pelo HIV.

Lange e colaboradores (2002) também apontam evidências de uma restauração imune fenotípica e funcional incompleta em pessoas com doença avançada pelo HIV, todavia advertem que ainda permanece obscuro se iniciar o tratamento em momento mais precoce da infecção pelo HIV se traduziria em uma melhor evolução clínica da doença.

No presente estudo, a média do nadir de LT-CD4+ dos pacientes investigados não foi muito baixa, em torno de 200 cel/mm³. Buscou-se analisar o papel do nadir de LT-CD4+ e a resposta à vacina contra febre amarela, contudo não foi possível estabelecer associação entre as variáveis. Lange e colaboradores (2003) ao selecionarem pacientes com LT-CD4+ normalizada e carga viral indetectável após o início da TARV, reconheceram o nadir de LT-CD4+ como um importante preditor da resposta imune.

Investigou-se também no presente estudo a existência de outros possíveis fatores preditivos da resposta à vacina nos pacientes infectados pelo HIV analisados. Semelhantemente ao encontrado por Van Den Berg e colaboradores (2009), não foi demonstrada associação da resposta imune com a idade, sexo e coinfeção com HBV nos pacientes analisados. Bailey e colaboradores (2008) também não demonstraram associação entre a resposta à vacina contra hepatite B nesta população e a presença de coinfeção com hepatite C. O mesmo foi observado em nosso estudo.

O que se demonstrou foi uma tendência maior do grupo com níveis protetores de anticorpos neutralizantes de apresentarem-se na categoria clínica A de classificação do CDC, contudo isto não foi estatisticamente significativo

($p=0,3$), semelhantemente ao observado por Madhi e colaboradores (2005) para vacina contra *Haemophylus influenza tipo B* conjugada em PVHA.

Zuccotti e colaboradores (2004) ao estudarem a resposta à vacina contra Influenza em 23 crianças infectadas pelo HIV, concluíram que, pelo menos em parte, a boa resposta imune observada na maioria dos participantes da pesquisa deveria estar relacionada ao bom *status* imunológico no qual se encontravam, demonstrado por meio da classificação pelo CDC.

Notou-se também que pacientes que não apresentaram títulos protetores de anticorpos neutralizantes tiveram proporcionalmente mais infecções oportunistas no passado, quando comparados àqueles que responderam à vacina. Isto pode estar relacionado ao início mais tardio da TARV nesta população, que aumentaria o risco de infecções oportunistas (Egger et al, 2002). Conforme já exposto por Moir e colaboradores (2009) em pacientes que iniciam TARV mais tardiamente, a perda de células B de memória pode ser irreversível.

Outro fator analisado foi o tempo transcorrido desde a última dose da vacina, notando-se uma média baixa, de apenas 2 anos, na população estudada. Notou-se que o grupo que repondeu à vacina possuía uma média menor, de 2 anos, quando comparado ao que não respondeu, 5 anos. Ressalta-se todavia, que mesmo para os que não responderam havia transcorrido apenas um curto período de tempo após a vacinação.

O mesmo foi observado por Gómez e colaboradores (2008) ao estudar a resposta à vacina contra febre amarela em indivíduos colombianos. Os pesquisadores observaram uma correlação negativa entre a frequência de

títulos protetores de anticorpos neutralizantes e o tempo transcorrido após a imunização.

Neste estudo, ao avaliar os títulos de anticorpos neutralizantes em dois momentos, observou-se que uma paciente cuja primeira dosagem demonstrou níveis protetores, na segunda coleta, realizada menos de 2 anos após a última dose da vacina, houve perda desta resposta. Tratava-se de um caso de transmissão vertical do HIV e com nadir de LT-CD4+ extremamente baixo.

De acordo com Armenian (2006), para esta população de indivíduos cuja categoria de exposição foi a transmissão vertical e gravemente imunossuprimida, mesmo após o início da TARV, a recuperação de LT-CD4+ pode não ocorrer. Wallace e colaboradores (2004) advertem que a resposta sustentada à vacina pode diminuir 80% em até um ano entre aqueles indivíduos cuja contagem de LT-CD4+ é inferior a 300 cel/mm³. A paciente do nosso estudo que já apresentava contagem de LT-CD4+ extremamente baixa na primeira coleta (146 cel/mm³) ainda apresentou uma redução na ocasião da segunda coleta.

Veit e colaboradores (2009) também observaram uma perda de resposta à vacina contra febre amarela em 11 pacientes infectados pelo HIV, que inicialmente haviam apresentado títulos protetores de anticorpos neutralizantes. Isto ocorreu em uma média de tempo de 1,8 anos após a vacinação. Em um estudo realizado por Farquhar e colaboradores (2009) foi relatada a perda da resposta à vacina contra o sarampo em 53% das crianças infectadas pelo HIV que inicialmente demonstraram anticorpos contra o vírus, em apenas 6 meses de seguimento.

Assim, o que se pode perceber é que pessoas vivendo com HIV/aids apresentam uma resposta pior à imunização contra febre amarela quando comparados com a população não infectada pelo HIV. Além disso, aqueles que inicialmente respondem à vacina podem apresentar uma resposta não sustentada à mesma. A contagem de LT-CD4+ e a carga viral serviriam como preditores da resposta vacinal. Respeitando-se as condições imunológicas destes indivíduos, a estratégia de prevenção a partir da utilização de vacinas com vírus vivo é segura nesta população.

Contudo, mesmo na população infectada pelo HIV previamente imunizada, existe a incerteza de proteção. Com isso, esta população permaneceria vulnerável à aquisição da doença e, dependendo do seu *status* imunológico, poderia inclusive apresentar um curso mais grave da infecção.

Algumas estratégias poderiam ser consideradas a partir do observado. Primeiramente, seria necessária a dosagem de anticorpos após a imunização, para se ter a certeza que a imunoproteção foi alcançada e, decorrido um intervalo de tempo, para se ter a certeza que o indivíduo permaneceria protegido.

Para aqueles indivíduos que não responderam à dose convencional da vacina, poderia ser aplicada uma dose maior. De acordo com o observado por Cate e colaboradores (2010), ao aumentar a dose da vacina, consegue-se elevar sua imunogenicidade. O mesmo foi relatado por Rey e colaboradores (2000) que dobraram o número de doses da vacina contra hepatite B, melhorando significativamente a resposta à vacina.

Outra estratégia a ser considerada para àqueles que não responderam à vacina seria a aplicação de uma nova dose. Hepburn e colaboradores (2006),

ao examinarem os títulos de anticorpos neutralizantes após uma nova dose de vacina contra febre amarela, perceberam que aqueles que inicialmente apresentavam baixos títulos exibiram uma robusta resposta sorológica. O mesmo foi observado por Pistone e colaboradores (2010) após revacinarem 4 indivíduos infectados pelo HIV que inicialmente não haviam respondido à vacina. Em todos foi demonstrada a presença de títulos protetores após a segunda dose da vacina 17D.

Alguns autores recomendam que a aplicação da segunda dose seja feita após o início da TARV. Berkelhamer e colaboradores (2001) ao estudarem crianças sem proteção contra o sarampo, apesar de já terem recebido a tríplice viral, demonstraram que pacientes que estavam recebendo TARV foram mais propensos a responder à dose adicional do que aqueles que não estavam em TARV.

Para outros autores, além da instituição da TARV, seria necessário que se aguardasse a elevação da contagem de LT-CD4+ para que uma nova dose fosse aplicada. Laurence (2005) relatou que pacientes não respondedores à vacinação podem reagir a uma vacina subsequente caso apresentem elevação na contagem de linfócitos T-CD4+ superior a 500 cel/mm³ após a instituição da TARV. O que é corroborado com o relatado por Iorio e colaboradores (1997) que não observaram resposta ao reforço, nos pacientes com contagem de LT-CD4+ <500 cel/mm³.

Segundo Sutclif e colaboradores (2010) é improvável que a terapia antirretroviral restaure as células B de memória para antígenos de vacinas administradas antes do início do tratamento, contudo pode restaurar a habilidade do sistema imune de responder a novos antígenos. A maioria dos

estudos demonstra que contagem de LT-CD4+ mais elevada e carga viral mais baixa estão fortemente ou independentemente associadas à melhora da resposta após a vacinação, sugerindo assim que se deva esperar um tempo suficiente para restauração da função imune e supressão da carga viral antes da nova vacinação.

Uma vez que a resposta à vacina em PVHA possui uma durabilidade menor do que a encontrada na população em geral, deve-se avaliar o reforço mais freqüente desta vacina para esta população específica. De acordo com Veit e colaboradores (2009) para esta população deveria ser considerado um reforço a cada 2-5 anos de intervalo, e não a cada 10 anos como é recomendado para população em geral.

Em termos de perspectivas sobre a vacina contra febre amarela, uma vacina não replicante em cultura foi testada em ratos, *hamster* e macacos e demonstrou ser equivalente ou mais imunogênica do que a 17D. Esta vacina inativada (XRX-001) não causaria os eventos adversos graves observados com a 17D e potencialmente poderia ser usada em indivíduos com contra-indicações ou precauções à vacina com vírus vivo, como as PVHA (Monath et al., 2010). Um estudo clínico fase 1, com a vacina XRX-001 induziu a produção de anticorpos neutralizantes em grande parte dos indivíduos analisados, contudo a duração desta resposta ainda necessita ser avaliada (Monath et al., 2011)

O presente estudo possui algumas limitações que devem ser pontuadas. Por tratar-se de um estudo transversal, no qual as informações referentes à resposta à vacina foram coletadas simultaneamente às outras variáveis, dados referentes ao momento no qual a vacina foi aplicada não foram considerados.

Outra limitação encontrada foi o pequeno número de pacientes que realmente coletaram exames laboratoriais. Assim de 107 pacientes incluídos apenas 58 coletaram exames. Além disso, destes, houve uma grande perda de seguimento no decorrer da investigação. Isto pode ser explicado pela paralisação ocorrida na UNB/HUB no período da pesquisa, que fez com que o laboratório só realizasse, durante um grande período, exames de urgência.

Assim o pequeno tamanho da amostra com o qual se trabalhou, principalmente do grupo que não apresentou títulos protetores de anticorpos neutralizantes, pode ter contribuído para dificuldade em se demonstrar significância estatística em alguns dos resultados apresentados, tais como, a associação da resposta às características de base dos pacientes.

Além disso, ressalta-se que, para avaliação da resposta à vacina contra febre amarela, foi utilizada a mensuração de anticorpos neutralizantes contra febre amarela, que constitui uma medida indireta da resposta à vacinação. Soma-se a isso, o fato do estudo ter sido realizado em uma área endêmica para febre amarela e tratar-se de uma infecção assintomática na maioria dos casos e, como critério de inclusão, bastava não haver relato de infecção prévia. Outra limitação é a possibilidade de reação cruzada com anticorpos contra o vírus da dengue (Gómez, 2009), e a incidência de casos de dengue na população estudada é desconhecida.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo sugerem que pessoas vivendo com HIV/aids respondem pior à vacina contra febre amarela, no que se refere à proteção imune, comparando-se a indivíduos não infectados pelo HIV. Deste modo, seria indicado que após a vacinação fosse mensurado o nível de anticorpos neutralizantes para guiar a necessidade de dose adicional. Levando-se em consideração a resposta menos duradoura nesta população dever-se-ia considerar a realização de reforços mais freqüentes e a possibilidade de doses maiores da vacina.

Ao investigar a relação da resposta à vacina contra febre amarela e a contagem de linfócitos T-CD4+, ambos avaliados em um mesmo momento, não foi possível identificar associação entre as variáveis. Todavia, foi demonstrado existir uma correlação positiva fraca, isto é, indivíduos com contagem de LT-CD4+ superior responderam melhor à vacina.

Em relação à carga viral do HIV e a resposta à vacina contra febre amarela, identificaram-se indícios de associação entre as variáveis, todavia como o valor de p foi limítrofe, seria recomendável o aumento do tamanho da amostra para que houvesse uma conclusão mais segura. Foi observada uma correlação negativa moderada, contudo estatisticamente significativa, entre a resposta à vacina e a carga viral plasmática.

Não foi possível a identificação de outros possíveis fatores preditivos da resposta à vacina contra febre amarela em PVHA. Contudo, observou-se uma tendência no grupo respondedor de apresentar-se mais na categoria clínica A de classificação do CDC, de não ter relato de IO no passado e de possuir uma

média menor de tempo desde a última dose da vacina. Para conclusões mais confiáveis, seria necessário aumentar o tamanho da amostra.

Deste modo, conclui-se que o estudo traz como relevância o acréscimo de informações sobre a imunogenicidade da vacina contra febre amarela em PVHA, tema ainda pouco investigado no meio acadêmico. Diante do exposto, estratégias de imunização e monitoramento da resposta à vacina neste grupo populacional devem ser reconsideradas, uma vez que a febre amarela é uma doença endêmica no país, e com indicação de imunização na localidade estudada.

Para maiores elucidações em relação aos fatores preditivos da vacina, seria recomendável um estudo com maior tamanho amostral, idealmente de delineamento prospectivo, para que informações referentes à condição imunológica no momento da imunização também fossem analisadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abzug MJ, Pelton SI, Song LY, Fenton T, Levin MJ, Nachman SA et al. Immunogenicity, Safety, and Predictors of Response After a Pneumococcal Conjugate and Pneumococcal Polysaccharide Vaccine Series in Human Immunodeficiency Virus–Infected Children Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25: 920–9.
- Albuquerque BC. Febre amarela. In:Tavares W, Marinho LAC. Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias. São Paulo: Atheneu; 2005. p. 430-8.
- Amendola A, Tanzi E, Zappa A, Colzani D, Boschini A, Musher DM et al. Safety and immunogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in HIV-1 infected former drug users. *Vaccine.* 2002; 20: 3720–4.
- Armenian SH, Han JY, Dunaway TM, Church JA. Safety and Immunogenicity of live varicella virus vaccine in children with Human Immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25: 368-70.
- Aurpibul L, Puthanakit T, Siriakson S, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Prevalence of protective antibody against measles in HIV-infected children with immune recovery after highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 2006; 7:467–70.
- Bailey CL, Smith V, Sands M. Hepatitis B vaccine: a seven-year study of adherence to the immunization guidelines and efficacy in HIV-1-positive adults. *Int J Infect Dis.* 2008; 12: 77-83.
- Barrett ADT, Teuwen DE. Yellow fever vaccine —how does it work and why do rare cases of serious adverse events take place? *Curr Opin Immunol.* 2009; 21: 308–13.
- Barros HC; Longhini, ALF; Natalone FC; Kuribayashi, JS; Tayama T. Manual para a quantificação de Linfócitos T CD4/ CD8 Sistema: BD FACSCalibur™ 2008.
- Belsher JL , Gaya P, Brinton M, DellaValla J, Ridenour R, Lanciotti R et al. Fatal multiorgan failure due to yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease. *Vaccine.* 2007; 25: 8480–5.
- Berkelhamer S, Borock E, Elsen C, Englund J, Johnson D. Effect of Highly Active Antiretroviral Therapy on the Serological Response to Additional Measles Vaccinations in Human Immunodeficiency Virus–Infected Children. *Clin Infect Dis.* 2001; 32:1090–94.
- Bekker V, Westerlaken GHA, Scherpbiera H, Alders S, Zaaijer H, Baarle DV et al. Varicella vaccination in HIV-1-infected children after immune reconstitution. *AIDS.* 2006; 20:2321–9.

- Benne CA, Kroon FP, Harmsen M, Tavares L, Kraaijeveld CA, Jong JC. Comparison of Neutralizing and Hemagglutination-Inhibiting Antibody Responses to Influenza A Virus Vaccination of Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998; 114–7.
- Bhadelia N, Klotman M, Caplivski D. The HIV-Positive Traveler. *The Am J Med*. 2007; 120: 574-80.
- Bongiovanni M, Casana M. Hepatitis B Vaccination in HIV-Infected Subjects. *Curr Mol Pharmacol*. 2008; 1: 191-4.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Organização Mundial de Saúde. Regulamento Sanitário Internacional, 2005 (RSI-2005). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília. 2009.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Subsecretaria de Vigilância à Saúde. Diretoria de Vigilância Epidemiológica do Distrito Federal. Bolletim epidemiológico. Ano 7, nº 1, janeiro a julho de 2008
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual dos centros de referência para imunobiológicos especiais. 3 ed. Ministério da Saúde, Brasília 2006.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de imunizações. Manual de Eventos Adversos Pós-Vacinação. Ministério da Saúde. 2005.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Febre Amarela Silvestre, Brasil, 2009. BOLETIM DE ATUALIZAÇÃO. [serial online]. Disponível em: URL: <http://www.portal.saude.gov.br/portal>.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 6. Ed. Ministério da Saúde (DF); 2005
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV. Ministério da Saúde. Brasília. 7ed. 2008.
- Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Recomendações para vacinação em pessoas infectadas pelo HIV. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. Brasília. 2002
- Cagigi A, Nilsson A, Milito A, Chiodia F. B cell immunopathology during HIV-1 infection: Lessons to learn for HIV-1 vaccine design. *Vaccine*. 2008; 26: 3016-25.
- Came CA, Weller IVD, Waite J, Briggs M, Pearce F, Adler MW et al. Impaired responsiveness of homosexual men with HIV antibodies to plasma-derived hepatitis-B vaccine. *Br. Med. J* 1987; 294: 866-8.

- Cate TR, Rayford Y, Niño D, Winokur P, Brady R, Belshe R et al. A High Dosage Influenza Vaccine Induced Significantly More Neuraminidase Antibody than Standard Vaccine among Elderly Subjects. *Vaccine*. 2010; 25: 2076–9.
- Centro de Controle e Prevenção de Doenças. Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Yellow Fever Vaccine. 2010. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/mmwr>
- Centro de Controle e Prevenção de Doenças. Revised Surveillance Case Definitions for HIV Infection Among Adults, Adolescents, and Children Aged <18 Months and for HIV Infection and AIDS Among Children Aged 18 Months to <13 Years - United States, 2008. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwr>
- Centro de Controle e Prevenção de Doenças. The Pre-Travel Consultation. Yellow Fever. In: *Yellow Book*. Elsevier. Atlanta. 2010. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/Features/YellowBook2010>.
- Chan RC, Penney DJ, Littl D, Carter IW, Roberts JA, Rawlinson WD. Hepatitis and death following vaccination with 17D-204 yellow fever vaccine. *Lancet*. 2001; 358: 121-2.
- Conesa-Botella A, Colebunders R. Response to “Case of yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease with prolonged viremia, robust adaptive immune responses, and polymorphisms in CCR5 and RANTES genes.” *J Infect Dis*. 2009; 199: 601
- Conference report. 17D yellow fever vaccines: New insights. [editorial]. *Vaccine*. 2007; 25: 2758–65.
- Doblas A, Domingob C, Baec HG ,Boh´orquez CL, Oryb F, Niedrig M et al. Yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease and death in Spain. *J Clin Virol*. 2006; 36: 156–8.
- Egger M, May M, Chêne G, Phillips AN, Ledergerber B, Dabis F et al. Prognosis of HIV-1-infected patients starting highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis of prospective studies. *Lancet*. 2002; 360: 119-29.
- Engel AR, Vasconcelos PFC, McArthur MA, Barrett ADT. Characterization of a viscerotropic yellow fever vaccine variant from a patient in Brazil. *Vaccine*. 2006; 24: 2803–9.
- Fabbiani M, Giambenedetto SD, Sali M, Farina S, Sansonetti P, Tamburrini E et al. Immune response to influenza A (H1N1)v monovalent MF59-adjuvanted vaccine in HIV-infected patients. *Vaccine*. 2011; 29: 2836–9.

- Farquhar C, Wamalwa D, Selig S, John-Stewart G, Mabuka J, Majiwa M et al. Immune responses to measles and tetanus vaccines among Kenyan human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected children pre- and post-highly active antiretroviral therapy and revaccination. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; 28: 295–9.
- Fitzner J, Coulibaly D, Kouadio DE, Yavoc JC, Loukoud YG, Koudou PO et al. Safety of the yellow fever vaccine during the September 2001 mass vaccination campaign in Abidjan, Ivory Coast. *Vaccine*. 2004; 23:156–62.
- Franco O. História da Febre Amarela no Brasil. Rio de Janeiro, Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Ministério da Saúde, 1976.
- Fundação Oswaldo Cruz. Protocolo para procedimento de Teste de Neutralização em Placas Redutoras. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 2010.
- Galler R, Pugachev KV, Santos CLS, Ocran SW, Jabor AV, Rodrigues SG et al. Phenotypic and Molecular Analyses of Yellow Fever 17DD Vaccine Viruses Associated with Serious Adverse Events in Brazil. *Virology*. 2001; 290: 309–19.
- Gardner CL, Ryman KD. Yellow Fever: A Reemerging Threat. *Clin Lab Med* 2010; 30:237–260
- Geretti AM; BHIVA Immunization Writing Committee, Brook G, Cameron C, Chadwick D, Heyderman RS et al. British HIV Association guidelines for Immunization of HIV-infected adults 2008. *HIV Med*. 2008; 9: 795-848.
- Gianella A. Fiebre Amarilla. *Rev. de Enfermedades Infecciosas y Tropicales*. 2009; 1: 3-3.
- Giorgi JV, Lyles RH, Matud JL, Yamashita TE, Mellors JW, Hultin LE et al. Predictive value of immunologic and virologic markers after long or short duration of HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002; 29: 346-55.
- Gómez SY, Ocazonez RE. Anticuerpos Neutralizantes contra El Virus de la Fiebre Amarilla 17 D em Colombianos Vacunados y no Vacunados con Inmunidad a Dengue. *Rev. salud publica*. 2008; 10: 796-807.
- Guillou-Guillemette H, Renier G, Vielle B, Abgueguen P, Chennebault JM, Lunel F et al. Immune Restoration Under HAART in Patients Chronically Infected with HIV-1: Diversity of T, B and NK Immune Responses. *Viral Immunol*. 2006; 19: 267–76.
- Guimard T, Minjolle S, Polard E, Fily F, Zeller H, Michelet C et al. Short report: Incidence of yellow fever vaccine-associated neurotropic disease. *Am J Med Trp Hyg*. 2009; 81: 1141-3.

- Hepburn MJ, Kortepeter MG, Pittman PR, Boudreau EF, Mangiafico JA, Buck PA et al. Neutralizing antibody response to booster vaccination with the 17d yellow fever vaccine. *Vaccine*. 2006; 24: 2843–9.
- Iorio AM, Alatrill A, Franc D, Preziosi R, Neri M, Donatelli I et al. Immunogenicity of influenza vaccine (1993-94 winter season) in HIV-seropositive and seronegative ex-intravenous drug users. *Vaccine*. 1997; 15:97-102.
- Kalinowska NA, Bociaga JM, Garlicki A, Mach T. Efficacy of vaccination against hepatitis B in adult with HIV infection. *Przeql Epidmiol*. 2007;61:339-47.
- Kemper CA, Haubrich R, Frank I, Dubin G, Buscarino C, McCutchan JA, Deresinski SC. Safety and Immunogenicity of Hepatitis A Vaccine in Human Immunodeficiency Virus–Infected Patients: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *J Infect Dis*. 2003; 187:1327–31.
- Kengsakul K, Sathirapongsasuti K, Punyagupta S. Fatal Myeloencephalitis following yellow fever vaccination in a case with HIV infection. *J Med Assoc Thai* 2002; 85:131-4.
- King JC Jr, Vink PE, Farley JJ, Parks M, Smilie M, Madore, D, et al. Comparison of the safety and immunogenicity of a pneumococcal conjugate with a licensed polysaccharide vaccine in human immunodeficiency virus and non-human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 1996; 15: 192-6.
- Kitchener S. Viscerotropic and neurotropic disease following vaccination with the 17D yellow fever vaccine, ARILVAX. *Vaccine* 2004; 22:2103–5.
- Kroger A, Atkinson W, Marcuse E, Pickering L, Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). General recommendations on immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2006; 55: 1-48.
- Kroon FP, Dissela JTV, Jong JC, Zwinderman K, Furtha RV. Antibody response after influenza vaccination in HIV-infected individuals: a consecutive 3-year study. *Vaccine* 2000; 18: 3040-9.
- Jacobson MA, Khayam-Bashi H, Martin JN, Black D, Ng V. Effect of long-term highly active antiretroviral therapy in restoring HIV-induced abnormal B lymphocyte function. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002; 31: 472–7.
- Lange CG, Lederman MM, Medvik K, Asaad R, Wilda M, Kalayjiana R, Valdez H. Nadir CD4+ T-cell count and numbers of CD28+ CD4+ T-cells predict functional responses to immunizations in chronic HIV-1 infection. *AIDS*. 2003; 17: 2015–23.
- Lange CG, Valdez H, Medvik K, Asaad R, Lederman MM. CD41 T-lymphocyte Nadir and the Effect of Highly Active Antiretroviral Therapy on Phenotypic

and Functional Immune Restoration in HIV-1 Infection. *Clinic Immunol.* 2002; 102: 154–61.

Launay O, Grabar S, Gordien E, Desaint C, Jegou D, Abad S, et al. Immunological Efficacy of a Three-Dose Schedule of Hepatitis A Vaccine in HIV-Infected Adults: HEPAVAC Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008; 49: 272-5.

Laurence J. Hepatitis A and B immunizations of individuals infected with HIV. *Am J Med* 2005; 118:75-83.

Levin MJ, Gershon AA, Weinberg A, Song LY, Fentin T, Nowak B. Administration of Live Varicella Vaccine to HIV-Infected Children with Current or Past Significant Depression of CD4+ T Cells. *J Infect Dis.* 2006; 194:247–55.

Madhi SA, Kuwanda L, Saarinen L, Cutland C, Mothupi R, K"ayhty H et al. Immunogenicity and effectiveness of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in HIV infected and uninfected African children. *Vaccine.* 2005; 23: 5517–52.

Malaspina A, Moir S, Kottlil S, Hallahan CW, Ehler LA, Liu S et al. Deleterious Effect of HIV-1 Plasma Viremia on B Cell Costimulatory Function. *J Immunol* 2003; 170:5965-72.

Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 6nd ed. Elsevier. Pennsylvania. 2005.

McMahon AW, Eidex RB, Marfin AA, Russell M, Sejvar JJ, Markoff L, et al. Neurologic disease associated with 17D-204 yellow fever vaccination: a report of 15 cases. *Vaccine.* 2007; 26; 1727-34.

Miedema F, Petit AJ, Terpstra FG, Schattenkerk JK, de Wolf F, Al BJ, et al. Immunological abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV)-infected asymptomatic homosexual men. HIV affects the immune system before CD4+ T helper cell depletion occurs. *J Clin Invest* 1988; 82: 1908—1914

Miirö G, Kayhty H, Watera C, Tolmie H, Whitworth JAG, Gilks CF et al. Conjugate Pneumococcal Vaccine in HIV-Infected Ugandans and the Effect of Past Receipt of Polysaccharide Vaccine. *J Infect Dis.* 2005; 192: 1801–5.

Miloto A, Morch C, Sonnerborg A, Chiodi F. Loss of memory (CD27) B lymphocytes in HIV-1 infection. *AIDS.* 2001; 15: 957-64.

Miloto A, Nilsson A, Titanji K, Thorstensson R, Reizenstein E, Narita M, et al. Mechanisms of hypergammaglobulinemia and impaired antigen-specific humoral immunity in HIV-1 infection. *Blood.* 2004;103: 2180-6.

- Moir S, Fauci AS. B cells in HIV infection and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009; 9: 235–45.
- Moir S, Malaspina A, Pickeral OK, Donoghue ET, Vasquez J, Miller NJ, et al. Decreased survival of B cells of HIV-viremic patients mediated by altered expression of receptors of the TNF superfamily. *J Exp Med.* 2004; 200: 587–99.
- Moir S, Malaspina A, Ogwaro KM, Donoghue ET, Hallahan CW, Ehler LA et al. HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. *PNAS.* 2001; 98: 10362–7.
- Monath T, Cetron MS. Prevention of Yellow Fever in Persons Traveling to the Tropics. *Clin Infect Dis.* 2002; 34: 1369–78.
- Monath TP, Lee CK, Julander JG, Brown A, Beasley DW, Watts DM et al. Inactivated yellow fever 17D vaccine: Development and nonclinical safety, immunogenicity and protective activity. *Vaccine.* 2010; 28: 3827–40.
- Monath TP, Fowler E., Johnson CT, Balser J., Morin MJ, Sisti M et al. An Inactivated Cell-Culture Vaccine against Yellow Fever. *N. Engl. J. Med.* 2011; 7: 1326-33.
- Monath TP. Yellow fever – update. *Lancet Infect Dis.* 2001; 1: 11-20.
- Monath TP, Nichols R, Archambault WT, Moore L, Marchesani R, Tian J et al. Comparative safety and immunogenicity of two yellow fever 17D vaccines (ARILVAX AND YF-VAX) in a phase III multicenter, double-blind clinical trial. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002; 66: 533–41.
- Montoya CJ, Toro MF, Aguirre C, Bustamante A, Hernandez M, Arango LP et al. Abnormal humoral immune response to influenza vaccination in pediatric type-1 human immunodeficiency virus infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007; 102: 501-8.
- Niedrig M, Lademann M, Emmerich P, Lafrenz M. Assessment of IgG antibodies against yellow fever virus after vaccination with 17D by different assays: neutralization test, haemagglutination inhibition test, immunofluorescence assay and ELISA. *Trop Med Int Health.* 1999; 4: 867–71.
- Norah J. Shire, Jeffrey A. Welge, Kenneth E. Sherman Efficacy of inactivated hepatitis A vaccine in HIV-infected patients: a hierarchical bayesian meta-analysis. *Vaccine* 2006; 24: 272–279.
- Organização Mundial de Saúde. Yellow fever Fact sheet [serial online] 2011 [cited 2011 Jan]; 100. Disponível em: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets>

- Organização Mundial de Saúde. Yellow fever vaccination requirements and recommendations; and malaria situation. In: E-book International Travel and Health 2011. Organização Mundial de Saúde. 2011. Disponível em: URL: <http://apps.who.int/bookorders>.
- Organização Mundial de Saúde. Weekly epidemiological record [serial online] 2008 [cited 2008 Mar 21]; 83:105-8. Disponível em: URL: <http://www.who.int/wer>
- Pistone T, Verdière CH, Receveur MC, Ezzedine K, Lafon ME, Malvy D. Immunogenicity and tolerability of yellow fever vaccination in 23 French HIV-infected patients. *Curr HIV res.* 2010; 8: 461-6.
- Polcheira MF, Medeiros FC, Siqueira AM, Romero GA, Santos JB, Vasconcelos PFC et al. Avaliação da resposta imune protetora de pacientes com HIV/aids inadvertidamente vacinados contra febre amarela. In: XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e I Encontro de Medicina Tropical do Cone Sul, 2005, Florianópolis, SC. *Rev Soc Bras Med Trop. Supl I*, 2005; 38: 22.
- Pulendran B, Miller J, Querec TD, Akondy R, Moseley N, Laur O et al. Case of Yellow Fever Vaccine–Associated Viscerotropic Disease with prolonged Viremia, Robust Adaptive Immune Responses, and Polymorphisms in CCR5 and RANTES Genes. *JID* 2008; 198:500-7.
- Receveur MC, Thie´baut R, Vedy S, Malvy D, Mercie P, Bras M. Yellow Fever Vaccination of Human Immunodeficiency Virus–Infected Patients: Report of 2 Cases. *Clin Infect Dis.* 2000; 31:7–8.
- Redfield RR, Wright DC, James WD, Jones TS, Brown C, Burke DS. Disseminated vaccinia in a military recruit with human immunodeficiency virus (HIV) disease. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316: 673-6.
- Rey D, Krantz V, Partisani M, Schmitt MP, Meyer P, Libbrecht E et al. Increasing the number of hepatitis B vaccine injections augments anti-HBs response rate in HIV-infected patients. Effects on HIV-1 viral load. *Vaccine.* 2000; 18:1161-5.
- Saksawad R, Likitnukul S, Warachit B, Hanvivatvong O, Poovorawan Y, Puripokai P. Immunogenicity and safety of a pediatric dose virosomal hepatitis A vaccine in Thai HIV-infected children. *Vaccine.* 2011; 29: 4735-8.
- Shire NJ, Welge JA, Sherman KE. Efficacy of inactivated hepatitis A vaccine in HIV-infected patients: a hierarchical bayesian meta-analysis. *Vaccine.* 2006; 24:272–9.
- Sibailly TS, Wiktor SZ, Tsai TF, Cropp BC, Ekpini ER, Adjorlolo-Johnson G et al. Poor antibody response to Yellow fever vaccination in children infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 1177-9.

- Soonawala D, Rimmelzwaan GF, Gelinck LB, Visser LG, Kroon FP. Response to 2009 Pandemic Influenza A (H1N1) Vaccine in HIV-Infected Patients and the Influence of Prior Seasonal Influenza Vaccination. *PLoS ONE*. 2011; 6: 16496.
- Souza DF, Silva LCRF; Ceci L; Zanareli T; Mônico CD, Guedes R et al. Manual de carga viral HIV-1. 2007 Siemens.
- Stefano I, Sato HK, Pannuti CS, Omotoa TM, Mann G, Freire MS et al. Recent immunization against measles does not interfere with the sero-response to yellow fever vaccine. *Vaccine*. 1999; 17: 1042-6.
- Subramaniam KS, Segal R, Lyles RH, Rodriguez-Barradas MC, Pirofski L. Qualitative Change in Antibody Responses of Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals to Pneumococcal Capsular Polysaccharide Vaccination Associated with Highly Active Antiretroviral Therapy. *J Infect Dis*. 2003; 187: 758–68.
- Sutclif CG, Moss WJ. Do children infected with HIV receiving HAART need to be revaccinated? *Lancet Infect Dis*. 2010; 10: 630–42.
- Tanzi E, Esposito S, Bojanin J, Amendola A, Trabattoni D, Pariani E et al. Immunogenicity and Effect of a Virosomal Influenza Vaccine on Viral Replication and T-Cell Activation in HIV-Infected Children Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. *J Med Virol*. 2006; 78:440–5.
- Tattevin P, Depatureaux AG, Chapplina JM, Duponta M, Soualaa F, Arvieux C et al. Yellow fever vaccine is safe and effective in HIV infected patients. *AIDS* 2004; 18: 815–27.
- Tauil PL. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. *Rev Saude Publica*. 2010; 44: 555-8.
- Tauil PL, Santos JB, Moraes MA. Febre Amarela. In: Coura JR. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. 2v. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. P.1775-65.
- Terpstra FG, Al BJ, Roos MT, De Wolf F, Goudsmit J, Schellekens PT, et al. Longitudinal study of leukocyte functions in homosexual men seroconverted for HIV: rapid and persistent loss of B cell function after HIV infection. *Eur J Immunol*. 1989; 19: 667—73.
- Ungulkraiwit P, Jongjirawisan Y, Atamasirikul K, Sungkanuparph S. Factors for predicting successful immune response to hepatitis B vaccination in HIV-1 infected patients. *Southeast Asian J Trop Medic Public Health* 2007;38: 680-5.
- Van den Berg R, Van Hoogstraten I, Van Agtmael M. Non-responsiveness to hepatitis B vaccination in HIV seropositive patients; possible causes and solutions. *Review. AIDS Rev*. 2009; 11: 157-64.

- Vasconcelos PF, Costa ZG, Rosa ES, Luna E, Rodrigues SG, Barros VL et al. Epidemic of Jungle Yellow Fever in Brazil, 2000: Implications of Climatic Alterations in Disease Spread. *J Med Virol.* 2001; 65: 598-604
- Vasconcelos PF. Febre amarela no Brasil: reflexões e hipóteses sobre a emergência em áreas previamente livres. *Rev Saude Publica.* 2010.
- Vasconcelos PF. Febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003; 36: 275-93.
- Veit O, Niedrig M, Chapuis-Taillard C, Cavassini M, Mossdorf E, Schmid P et al. Immunogenicity and Safety of Yellow Fever Vaccination for 102 HIV-Infected Patients. *Clin Infect Dis.* 2009; 48:659–66.
- Wallace MR, Brandt CJ, Earhart KC, Kuter BJ, Grosso AD, Lakkis H et al. Safety and Immunogenicity of an Inactivated Hepatitis A Vaccine among HIV-Infected Subjects. *Clin Infect Dis.* 2004; 39:1207–13.
- Weinberg A, Lazar AA, Zerbe GO, Hayward AR, Chan ISF, Vessey R, Silber JL, MacGregor RR, Chan K, Gershon AA, Levin MJ. Influence of Age and Nature of Primary Infection on Varicella-Zoster Virus–Specific Cell-Mediated Immune Responses. *J Infect Dis.* 2010; 201:1024–30.
- Zuccotti GV, Zenga A, Durando P, Massone L, Brizzzone B, SALA D et al. Immunogenicity and Tolerability of a Trivalent Virosomal Influenza Vaccine in a Cohort of HIV-infected Children. *J Int Med Res.* 2004; 32: 492 – 9.

8. APÊNDICES

8.1. Termo de consentimento livre e esclarecido



Faculdade de Medicina
Campus Universitário Darcy Ribeiro 70910-900 - Brasília - DF
Telefones: 61-3307-2535/2266 Fax:3273-3907

Termo de Consentimento livre e esclarecido

Você está sendo convidado para participar, como voluntário, de um estudo, cujo título é “AVALIAÇÃO DA SOROCONVERSÃO PROTETORA PELA VACINA CONTRA A FEBRE AMARELA EM PORTADORES DE HIV/AIDS”. Os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, por isso a sua participação é importante.

No ano de 2000 e no início de 2008, ocorreram, no Brasil, epidemias de febre amarela nas áreas rurais do Estado de Goiás e do Distrito Federal, sendo recomendada a vacinação de toda a população. Dessa forma, portadores de HIV/AIDS foram vacinados, inadvertidamente, e sem recomendação médica e você sendo um desses indivíduos, está sendo convidado a participar dessa pesquisa.

O objetivo desse estudo é comparar a quantidade de linfócitos T CD4+ e a carga viral com os níveis de anticorpos neutralizantes protetores contra a febre amarela. Para isso será colhido sangue a cada três meses, durante o período de um ano, como você já faz em relação ao CD4+ e carga viral. Somente será colhido um pouco de sangue a mais.

Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas também não terá nenhuma despesa com os exames. Seu nome não aparecerá no estudo, a identificação será pelas iniciais do nome e o número de registro do prontuário no Hospital Universitário de Brasília.

O benefício que você terá é a verificação se está ou não protegido contra a febre amarela, doença grave e muitas vezes fatal.

Termo de consentimento livre, após esclarecimento

Eu, _____ li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e que procedimento será feito. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo.

Eu concordo em participar do estudo.

Brasília, ____ de _____ 2008/2009.

Tendo ciência do exposto acima, assino esse termo de consentimento.

Brasília,/...../.....

Assinatura do voluntário (ou responsável legal)

Assinatura do pesquisador orientador

Nº do RG do voluntário:

Assinatura do pesquisador responsável

Telefone de contato dos pesquisadores: Prof. Dr. Cleudson Castro (3273-5008), Mestranda: Dra Helena Bernal, fone 81838252, Acadêmica: Anna Carolina Mendes de Andrade, fone 9292-2384, Acadêmico: Raphael de Souza Pires, fone 8142- 3340.

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina/Universidade de Brasília, pelo telefone: (61) 3307-2520/ 3273-4069 e-mail: cep-fm@uol.com.br.

8.2. Questionário de inclusão para pesquisa.



Universidade de Brasília

QUESTIONÁRIO DE INCLUSÃO PARA PESQUISA: Avaliação da resposta imune protetora à vacina contra a febre amarela em pessoas vivendo com HIV/aids

I. INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS

Nome completo: _____

Prontuário: _____

Contato: _____

Idade: _____ (anos completos)

Sexo: _____ F-Feminino/M-Masculino

Nacionalidade: _____

Naturalidade: _____

II. INFORMAÇÕES REFERENTES À VACINAÇÃO CONTRA FEBRE AMARELA:

Ano da última dose da vacina contra febre amarela: _____

Quantidade de vezes que tomou a vacina contra febre amarela: () 1 vez

() Mais de uma vez

Presença de eventos adversos à vacina contra febre amarela : () Não

() Sim, eventos leves.

Especificar: _____

() Sim, eventos graves.

Especificar: _____

I. INFORMAÇÕES REFERENTES À INFECÇÃO PELO HIV :

Ano do diagnóstico do HIV: _____

Nadir LT-CD4+ : _____

Categoria de exposição ao HIV: () Sexual, relação heterossexual

() Sexual, relação homossexual

() Transfusional

() Uso de droga intravenosa

() Vertical

() Ignorada

Categoria clínica da doença, segundo a classificação do CDC/EUA:

() A – Assintomática, LGP ou infecção aguda pelo HIV

() B- Sintomática, exceto C

() C- Doença definidora de AIDS

Em uso de Terapia Antirretroviral combinada (TARV): () Não

() Sim

TARV com inibidor de protease: () Não

() Sim

Infecção oportunista prévia:

() Não

() Sim

() Herpes Zoster

() Neurotoxoplasmose

() Pneumocistose

() Citomegalovirose

() Tuberculose

() Sífilis

() Candidose oral, esofageana, vaginal

Sarcoma de Kapoisi Outras

INFORMAÇÕES REFERENTES À OUTRAS CONDIÇÕES PATOLÓGICAS :

Comorbidades: Hipertensão arterial

Diabetes Mellitus

Obesidade

Dislipdemia

Outras. Especificar: _____

Coinfecção com Hepatites:

NÃO

SIM, coinfecção com hepatite B

SIM, coinfecção com hepatite C

SIM, coinfecção com hepatite B e C

Assinou o TCLE: Sim

Não

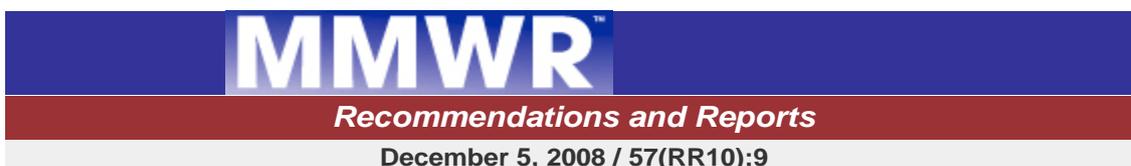
Observações:

Data do preenchimento: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

9. ANEXOS

9.1. Doenças definidoras de AIDS, segundo o CDC (2008)



AIDS-Defining Conditions

- Bacterial infections, multiple or recurrent*
- Candidiasis of bronchi, trachea, or lungs
- Candidiasis of esophagus[†]
- Cervical cancer, invasive[§]
- Coccidioidomycosis, disseminated or extrapulmonary
- Cryptococcosis, extrapulmonary
- Cryptosporidiosis, chronic intestinal (>1 month's duration)
- Cytomegalovirus disease (other than liver, spleen, or nodes), onset at age >1 month
- Cytomegalovirus retinitis (with loss of vision)[†]
- Encephalopathy, HIV related
- Herpes simplex: chronic ulcers (>1 month's duration) or bronchitis, pneumonitis, or esophagitis (onset at age >1 month)
- Histoplasmosis, disseminated or extrapulmonary
- Isosporiasis, chronic intestinal (>1 month's duration)
- Kaposi sarcoma[†]
- Lymphoid interstitial pneumonia or pulmonary lymphoid hyperplasia complex*[†]
- Lymphoma, Burkitt (or equivalent term)
- Lymphoma, immunoblastic (or equivalent term)
- Lymphoma, primary, of brain
- *Mycobacterium avium* complex or *Mycobacterium kansasii*, disseminated or extrapulmonary[†]
- *Mycobacterium tuberculosis* of any site, pulmonary,^{†§} disseminated,[†] or extrapulmonary[†]
- *Mycobacterium*, other species or unidentified species, disseminated[†] or extrapulmonary[†]
- *Pneumocystis jirovecii* pneumonia[†]
- Pneumonia, recurrent^{†§}
- Progressive multifocal leukoencephalopathy
- *Salmonella* septicemia, recurrent
- Toxoplasmosis of brain, onset at age >1 month[†]
- Wasting syndrome attributed to HIV

* Only among children aged <13 years. (CDC. 1994 Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. MMWR 1994;43[No. RR-12].)

[†] Condition that might be diagnosed presumptively.

[§] Only among adults and adolescents aged ≥13 years. (CDC. 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR 1992;41[No. RR-17].)

9.2. Termo de aprovação da Pesquisa pelo CEP-FM.



Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Campus Universitário, Asa Norte – CEP 70910-9000 – Brasília, DF - Tel.: (061) 3307-2520 / 3273-4069

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro de projeto: CEP-FM 067/2008

Título: "Avaliação da soroconversão protetora pela vacina contra a febre amarela em pessoas vivendo com HIV/AIDS".

Pesquisador responsável: Cleudson Nery de Castro

Documentos analisados: Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo(s) de pesquisador(es).

Data de entrada: 02/10/2008

Proposição do(a) relator(a)

(x) Aprovação

() Não aprovação

Data da primeira análise pelo CEP-FM/UnB: 08/10/2008

Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UnB: 26/11/2008

PARECER

Com base na Resolução CNS/MS Nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR**, na reunião ordinária de 26/11/2008, conforme parecer do (a) relator (a), o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

- 1 – Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
- 2 – O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM.

Brasília, 27 de novembro de 2008.

Prof. Elaine Maria de Oliveira Alves
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Medicina-UnB