



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Raquel Bernardo Nana de Castro

Resposta de anticorpos induzida pela vacina conjugada contra *Neisseria meningitidis* C em crianças e adolescentes infectados pelo HIV

Rio de Janeiro

2015

Raquel Bernardo Nana de Castro

**Resposta de anticorpos induzida pela vacina conjugada contra *Neisseria meningitidis* C
em crianças e adolescentes infectados pelo HIV**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador (a): Prof.^a Dra. Lucimar Gonçalves Milagres

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

C355 Castro, Raquel Bernardo Nana de.

Resposta de anticorpos induzida pela vacina conjugada contra *Neisseria meningitidis* C em crianças e adolescentes infectados pelo HIV / Raquel Bernardo Nana de Castro. – 2015.

57 f.

Orientadora: Lucimar Gonçalves Milagres

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

1. *Neisseria meningitidis* - Teses. 2. Meningite - Teses. 3. Anticorpos bacterianos. 4. Vacina meningocócica- Teses. 5. HIV (Vírus) – Teses. 6. Crianças – Teses. 7. Adolescentes – Teses. 8. Infecções por HIV. 9. Vacinas conjugadas. I. Milagres, Lucimar Gonçalves. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 576.8.095.21

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira CRB/7 5302

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Raquel Bernardo Nana de Castro

**Resposta de anticorpos induzida pela vacina conjugada contra *Neisseria meningitidis* C
em crianças e adolescentes infectados pelo HIV**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 06 de abril de 2015.

Orientadora: Prof. Dr. Lucimar Gonçalves Milagres
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Ph.D. Arnaldo Feitosa Braga de Andrade
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof. Dr. Ivna Alana F. B. da Silveira
Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Simone da Costa Cruz Silva
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

À Deus, o autor e consumidor da minha fé, pois até aqui me ajudou o Senhor. Ao meu querido marido e companheiro Frederico pelo amor, incentivo e apoio em todos os momentos difíceis. E aos meus pais que sempre compartilharam meus sonhos, acreditaram e oraram por mim.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por entregar seu filho Jesus para morrer pelos meus pecados, por me guiar até aqui e por me sustentar em cada momento, mesmo sem eu merecer.

Ao meu querido marido, Frederico, pelo amor, incentivo, compreensão e apoio em todos os momentos. Por sempre estar disposto a me ajudar.

Aos meus pais, Leila e José Geraldo, pelas orações, amor, compreensão, estímulo e confiança nos meus objetivos.

Aos meus familiares e amigos, pela amizade, torcida, compreensão e incentivo em todos os momentos.

À Dra. Lucimar Gonçalves Milagres, pela orientação, compreensão, estímulo e apoio. Por sempre estar disposta a ensinar, ouvir, discutir e vibrar com cada resultado obtido.

À Dra. Wânia Ferraz Pereira Mânfro, pela revisão deste trabalho, amizade, confiança e estímulo. Por não me deixar desanimar em nenhum momento durante o desenvolvimento deste trabalho. Por querer sempre o melhor para o meu desenvolvimento profissional.

À Doutoranda Giselle Pereira da Silva, pela orientação e por todo ensinamento no Ensaio Bactericida, obrigada pela disponibilidade, conselhos e pela maneira amigável que me recebeu no laboratório.

À equipe do Laboratório 5, pela torcida, amizade e contribuição direta ou indireta para realização deste trabalho.

À Dra. Ivna Alana F. B. da Silveira, pela doação de materiais para realização do experimento de ELISA.

À Dra. Cristina Hofer, pela parceria com os pacientes HIV positivos.

À toda Equipe do Departamento de Microbiologia e Imunologia, pelo auxílio, torcida, amizade e convivência neste período.

Aos colegas do Mestrado, pela convivência, amizade, torcida, vibração e momentos de descontração.

Ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia pela oportunidade de ingressar no curso de Mestrado.

À coordenação e a secretaria, especialmente à Carla e a Patrícia.

Às amigas Raquel Alvino e Rafaela Santos, pelo apoio constante e pela amizade desenvolvida nesses dois anos de convivência.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação.

Sem mim nada podereis fazer.

Jesus Cristo

RESUMO

CASTRO, Raquel Bernardo Nana de Castro. **Resposta de anticorpos induzida pela vacina conjugada contra *Neisseria meningitidis* C em crianças e adolescentes infectados pelo HIV.** 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

As infecções humanas causadas por *Neisseria meningitidis* continuam a ser um grave problema de saúde pública. A vacina conjugada contra *N. meningitidis* sorogrupo C (MenC) demonstrou ser segura e imunogênica em muitas populações de alto risco, com resultados variáveis de acordo com o grau de imunossupressão. Existem, entretanto, poucos dados sobre o uso dessa vacina em crianças e adolescentes infectados pelo HIV. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta de anticorpos de pacientes infectados pelo HIV após imunização contra o MenC. Foi realizado um estudo de coorte prospectivo com 154 crianças e adolescentes de 2 a 18 anos de idade infectados verticalmente pelo HIV. Todos os indivíduos receberam duas doses da vacina conjugada (Novartis), via intramuscular. As amostras de sangue foram coletadas antes da imunização (V1) e 1-2 meses após (V2), 1 ano após a imunização (V3) e 1-2 após a dose reforço (V4). Utilizamos o ensaio bactericida para avaliação da resposta dos anticorpos bactericidas e o ELISA para avaliar a resposta dos anticorpos IgG anti-polissacarídeo C. Foram necessárias duas doses da vacina conjugada para soroconversão da maioria (70%) dos indivíduos. Houve redução acentuada de anticorpos bactericidas e de IgG específica um ano após a primeira dose da vacina. Registrou-se correlações positivas e significativas entre a resposta de anticorpos bactericidas para as 2 cepas de MenC e níveis de IgG anti-PS-C após 2 doses da vacina. O mesmo foi visto quando analisamos a correlação entre a frequência de soroconversão avaliada pelos dois testes. Observou-se ainda correlação significativa entre IgG anti-polissacarídeo C e títulos de SBA após a primeira dose da vacina apenas para a cepa N79/96, sugerindo a influência do radical *orto*-acetil (OAc), visto que o polissacarídeo da cepa N79/96 é OAc+ enquanto que a cepa N753/00 é OAc-. Este trabalho demonstrou que uma dose da vacina induziu memória imunológica nos pacientes HIV+, a qual foi ativada pela segunda dose. Esta foi essencial para a soroconversão da maioria dos pacientes. Resta-nos investigar o melhor período para aplicação da segunda dose, de forma que pudéssemos ter um percentual ainda maior de respondedores neste grupo de pacientes.

Palavras-chave: *Neisseria meningitidis* sorogrupo C, HIV, vacina meningocócica conjugada sorogrupo C, anticorpos bactericidas.

ABSTRACT

CASTRO, Raquel Bernardo Nana de Castro. **Antibody response induced by the conjugate vaccine against *Neisseria meningitidis* C in children and adolescents infected with HIV.** 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

Human infections caused by *Neisseria meningitidis* remains a serious public health problem. A vaccine against *N. meningitidis* serogroup C (MenC) has been shown to be safe and immunogenic in many high-risk populations with varying results depending on the degree of immunosuppression. However, there are few data on the use of this vaccine in children and adolescents infected with HIV. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antibody response of patients infected with HIV after immunization against MenC. A prospective cohort study of 154 children and adolescents 2-18 years of age vertically infected by HIV was performed. All subjects received two doses of conjugated vaccine intramuscularly. Blood samples were collected prior to immunization (V1) and 1-2 months (V2), 1 year after immunization (V3) and 1-2 after the booster dose (V4). The bactericidal assay and ELISA was used to evaluate the bactericidal antibody response and IgG response to C polysaccharide, respectively. Two doses of vaccine were required seroconversion of most (70%) of the subjects. There was a marked decrease of bactericidal antibodies and specific IgG one year after the first dose of vaccine. We observed a positive and significant correlations between the results obtained in the bactericidal assay and ELISA after 2 doses of vaccine. The same was seen when we analyze the correlation between the frequency of seroconversion assessed by two tests. We observed a significant correlation between IgG anti-C polysaccharide and SBA titers after the first dose of the vaccine only for s N79/96, suggesting the influence of the ortho-acetyl radical (OAc), since the C polysaccharide of N79/96 strain is OAc+ while N753/00 is OAc-. This study demonstrated that one dose of vaccine induced immune memory in patients HIV+, which was activated by the second dose of vaccine, which was essential for the seroconversion of most of the patients. It remains important to investigate the best period for the second dose, so that we could have an even greater number of responders in this group of patients.

Keywords: *Neisseria meningitidis* serogroup C, HIV, meningococcal serogroup C conjugate vaccine, bactericidal antibodies.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura da <i>Neisseria meningitidis</i>	16
Figura 2	Distribuição mundial da doença meningocócica invasiva por sorogrupo.....	18
Tabela 1	Características da população de estudo	29
Tabela 2	Resposta de anticorpos bactericidas (SBA) contra MenC após vacinação..	30
Figura 3	Mediana de anticorpos bactericidas (SBA) para as cepas N79/96 (a) e N753/00 (b) antes e após a vacinação contra o MenC.....	32
Figura 4	Percentual dos títulos de SBA (log ₂) para as cepas N79/96 (a e c) e N753/00 (b e d) após a imunização (V2) e após a dose reforço (V4) contra o MenC.....	33
Figura 5	Comparação das Médias Geométricas (95% IC) das concentrações de IgG anti PS-C nas quatro visitas (V1 a V4) dos pacientes HIV.....	34
Figura 6	Correlação entre anticorpos bactericidas do soro e as concentrações de IgG anti-PS-C após a primeira dose da vacina (V2) para as cepas N79/96 e N753/00.....	35
Figura 7	Correlação entre os SBA e as concentrações de anticorpos IgG anti-PS-C após a dose reforço da vacina (V4) para as cepas N79/96 e N753/00.....	36
Figura 8	Correlação entre a soroconversão definida pelo ensaio bactericida e pelo ELISA IgG após a segunda dose da vacina	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP	Academia Americana de Pediatria
ACIP	Comitê consultivo em Práticas de Imunização
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BSA	Soro albumina bovina
CDC	Center for Diseases Control and Prevention
Células NK	Células assassinas naturais
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CV	Carga viral
DM	Doença Meningocócica
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DO	Densidade Ótica
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FCM/UERJ	Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro
HAART	Terapia antirretroviral altamente ativa
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IC	Intervalo de Confiança
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IPPMG	Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira
LCR	Líquido cefalorraquidiano
MCC	Vacinas meningocócicas conjugada do sorogrupo C
MCV4	Vacina meningocócica conjugada com polissacarídeo quadrivalente
MenC	<i>Neisseria meningitidis C</i>
mHSA	Methylated human serum albumin
Nm	<i>Neisseria meningitidis</i>
OAc+	Orto-acetil positiva
OAc-	Orto-acetil negativa
OMP	Proteínas da membrana externa
OPD	o-phenylenediamine

PBS	Tampão fosfato
PS-C	Polissacarídeo C
RNA	Ácido ribonucléico
SBA	Anticorpos bactericidas do soro
SFB	Soro fetal bovino
SNC	Sistema Nervoso Central
TARV	Terapia Antirretroviral
T20	Tween 20
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFC	Unidades formadoras de colônias
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
VCNT	Vancomicina, sulfonato metano colistina, trimetropim e nistatina

LISTA DE SÍMBOLOS

α	alfa
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
H_2O_2	Água oxigenada
\pm	Mais ou menos
μg	microgramas
μl	microlitros
H_2O	Molécula da água
M	Molar
mL	Mililitro
mm^3	Milímetro cúbico
N	Normal
nm	nanômetros
%	Percentual
®	Marca Registrada
\geq	Maior ou igual
\leq	Menor ou igual

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
1	OBJETIVOS	24
1.1	Objetivo Geral	24
1.2	Objetivos Específicos	24
2	MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1	População de estudo	25
2.2	Imunização e obtenção das amostras de sangue	25
2.3	Ensaio Bactericida	26
2.4	ELISA (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>)	27
2.5	Análises estatísticas	28
3	RESULTADOS	29
3.1	Resposta de anticorpos bactericidas	29
3.2	Resposta de IgG contra o polissacarídeo C (PSC)	24
3.3	Associações entre anticorpos bactericidas contra MenC e IgG anti-PSC	35
4	DISCUSSÃO	37
	CONCLUSÕES	44
	REFERÊNCIAS	45
	APÊNDICE – Critérios de inclusão e exclusão	52
	ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido para os pacientes HIV positivos	54
	ANEXO B – Documento de aprovação do estudo pelo CEP-HUPE-UERJ	57

INTRODUÇÃO

HIV

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um retrovírus com genoma RNA (ácido ribonucléico), da Família *Retroviridae* e subfamília *Lentivirinae*. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não-oncogênicos, que necessitam de uma enzima denominada transcriptase reversa para se multiplicar, responsável pela transcrição do RNA viral para uma cópia de DNA (ácido desoxirribonucléico), que pode, então, integrar-se ao genoma do hospedeiro (BRASIL, 2009). A ligação do HIV com a célula hospedeira ocorre por interação entre uma glicoproteína do envelope viral, a gp120, e a molécula CD4 das células hospedeiras, o que propicia a internalização da partícula viral (BUSHMAN; FUJIWARA; CRAIGIE, 1990; GOUDSMIT et al., 1986).

O HIV pode ser transmitido por via sexual (esperma e secreção vaginal); pelo sangue (via parenteral e vertical); pelo parto e aleitamento materno. Em geral, o tempo entre a infecção pelo HIV e o aparecimento de sinais e sintomas, na fase aguda, é de 5 a 30 dias. E o período de latência clínica, após a infecção aguda, até o desenvolvimento da imunodeficiência é longo, em média de 6 anos (BRASIL, 2009).

Aproximadamente duas a quatro semanas após a transmissão, o HIV dissemina-se rapidamente conduzindo a uma explosão da viremia e manifesta em uma proporção substancial de pacientes na fase aguda da doença, definida como manifestações clínicas gripais associadas à viremia plasmática elevada, febre e linfadenopatia. Na ausência de terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), normalmente a viremia plasmática atinge seu pico de 3 a 4 semanas após a exposição, depois declina espontaneamente por vários meses antes de atingir um estado de equilíbrio chamado de “*set point viral*” (MOIR; CHUN; FAUCI, 2011).

Esse vírus tem tropismo específico para células que apresentam o antígeno de superfície CD4, cujos principais representantes são linfócitos T auxiliares e células do sistema macrofágico-monocitário (KLATZMANN et al., 1984). No entanto, o HIV também induz disfunção imunológica de células T CD8 +, células B, células assassinas naturais (NK) e células não linfóides por meio de mecanismos que incluem o aumento do *turnover* celular, ativação, diferenciação e alterações na homeostase (MOIR; CHUN; FAUCI, 2011).

Crianças e adolescentes infectados pelo HIV apresentam manifestações clínicas e marcadores imunológicos e virológicos diferentes dos adultos em função da imaturidade do seu sistema imunológico, o que torna o curso da doença mais grave (AIDS, 2007). Adultos infectados podem permanecer assintomáticos por vários anos, já crianças infectadas *in útero* ou no período perinatal apresentam latência relativamente curta antes do surgimento da fase sintomática, apresentando evolução mais rápida e severa do que aquelas infectadas por outras vias, o que reflete o grau de imaturidade do sistema imune no momento da infecção pelo HIV (ORTIGÃO, 1995).

Após mais de 30 anos, a aids (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) continua a ser um dos mais sérios desafios mundiais à saúde, tendo custado mais de 35 milhões de vidas em todo o mundo. Globalmente, o HIV continua a ser a quinta principal causa de morte entre adultos e a principal causa de morte de mulheres entre 15 e 49 anos (BRASIL, 2013).

Em 2011, 34 milhões de pessoas viviam com HIV no mundo. Apesar da queda geral no número de pessoas recém infectadas pelo vírus, 2,5 milhões de pessoas o adquiriram em 2011, incluindo 3,4 milhões de crianças com menos de 15 anos de idade (BRASIL, 2013; UNAIDS, 2011).

Desde o início da epidemia, em 1980, até junho de 2012, o Brasil tem 656.701 casos registrados de aids (condição em que a doença já se manifestou). Em 2011, foram notificados 38.776 casos da doença e a taxa de incidência de aids no Brasil foi de 20,2 casos por 100 mil habitantes (BRASIL, 2012).

Observando-se a epidemia por região em um período de 10 anos, 2001 a 2011, a taxa de incidência caiu no Sudeste de 22,9 para 21,0 casos por 100 mil habitantes. Nas outras regiões, cresceu: 27,1 para 30,9 no Sul; 9,1 para 20,8 no Norte; 14,3 para 17,5 no Centro-Oeste; e 7,5 para 13,9 no Nordeste. Contudo, vale lembrar que o maior número de casos acumulados está concentrado na região Sudeste (56%) (BRASIL, 2012).

A história natural dessa infecção tem sido alterada, consideravelmente, pela HAART, a qual foi iniciada no Brasil em 1996, resultando em um aumento da sobrevivência dos pacientes, mediante a melhora das funções do sistema imunológico e redução de doenças oportunistas, conseqüentemente, melhorando a qualidade de vida desses pacientes (BRASIL, 2009; PACHECO et al., 2008, 2009).

Em 2013, a cobertura mundial da HAART foi de 38% para adultos, mas apenas 24% para as crianças. O aumento no número de crianças em terapia antirretroviral durante

o primeiro semestre de 2014 foi de apenas 3%, em comparação com um aumento de 6% para os adultos (UNAIDS, 2014).

A infecção pelo HIV conduz a uma perda progressiva das funções imunes humoral e celular e aumenta o risco de infecção. Este processo é desencadeado nas fases iniciais da infecção e envolve ambos linfócitos T e B (DICKOVER et al., 1994).

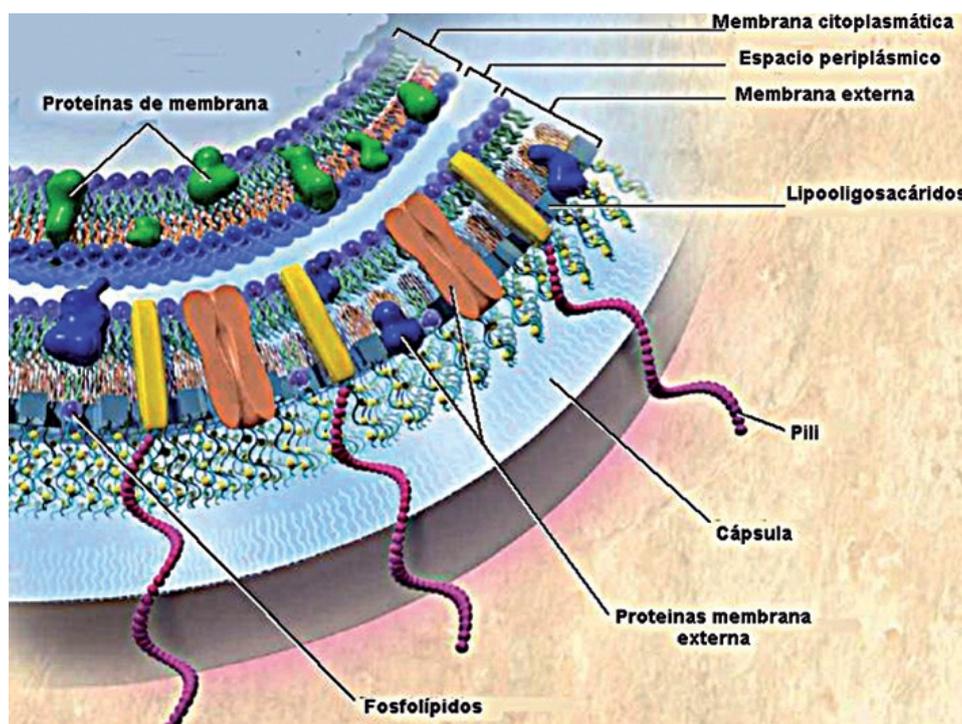
A infecção crônica é caracterizada pela ativação imune persistente, traduzido em maior expressão da molécula CD38+ e resposta policlonal de células B (GIORGI et al., 1999a). Esta ativação imune tem sido associada com a perda numérica e funcional de células T CD4+ e a progressão da doença. Também foi observado resposta imunológica diminuída à imunização de crianças e adolescentes contra o MenC decorrente da ativação excessiva dos LT CD4+ (MILAGRES et al., 2013).

***Neisseria meningitidis* e Doença Meningocócica**

A primeira vez que descreveram a "epidemia de meningite" foi em 1805, quando o Dr. Gaspard Vieusseux descreveu o quadro clínico de meningite durante uma epidemia em Genebra, Suíça. O organismo causador conseguiu ser cultivado e identificado em 1887 por Dr. Anton Weichselbaum em Viena. Weichselbaum identificou bactérias gram negativas em forma de diplococos "grãos de café" em células de pus obtidos a partir do líquido cefalorraquidiano (LCR) de um paciente com meningite, batizando como *Meningitidis diplococcus intracellularis*. Subsequentemente descobriu-se que as bactérias podiam ser encontradas na faringe de pessoas saudáveis e que existiam diferentes tipos de meningococo. O organismo foi então reclassificado como *Neisseria meningitidis* (WILHELM B.; VILLENA M., 2012).

A *Neisseria meningitidis* (Nm) é um bacilo gram negativo, que se apresenta aos pares (diplococos), com, aproximadamente, 0,8µm de diâmetro, aeróbica, imóvel, não esporulada, cujas características bioquímicas incluem positividade para catalase e oxidase e a capacidade de fermentar a glicose e a maltose (LEWIS; RAM, 2014).

Figura 1. Estrutura da *Neisseria meningitidis*.



Nota: Reproduzido da publicação original
 Fonte: Stephens; Greenwood; Brandtzaeg, 2007.

A *Nm* possui diversos mecanismos patogênicos que atuam após a adesão à mucosa, através dos *pili* e outras estruturas de superfície. Esta adesão é facilitada pela produção de enzimas que degradam a Imunoglobulina A (IgA). A bactéria contém duas membranas – interna ou citoplasmática e externa, que são separadas por uma camada de peptidoglicano (Figura 1) (BRICKS, 2002).

Na membrana externa existem lipooligosacáridos (endotoxinas) e diversas proteínas, envolvidas na patogênese da Doença Meningocócica (DM): aderência às células do hospedeiro, lesão tecidual e inibição do transporte de proteínas, entre outras. A membrana externa é revestida por uma cápsula de polissacarídeos essencial para a patogenicidade, tendo em vista que confere resistência à fagocitose, além de oferecer proteção contra agravos do meio ambiente (BRICKS, 2002). Quase todos os isolados invasivos de *Nm* expressam o polissacarídeo capsular (LEWIS; RAM, 2014).

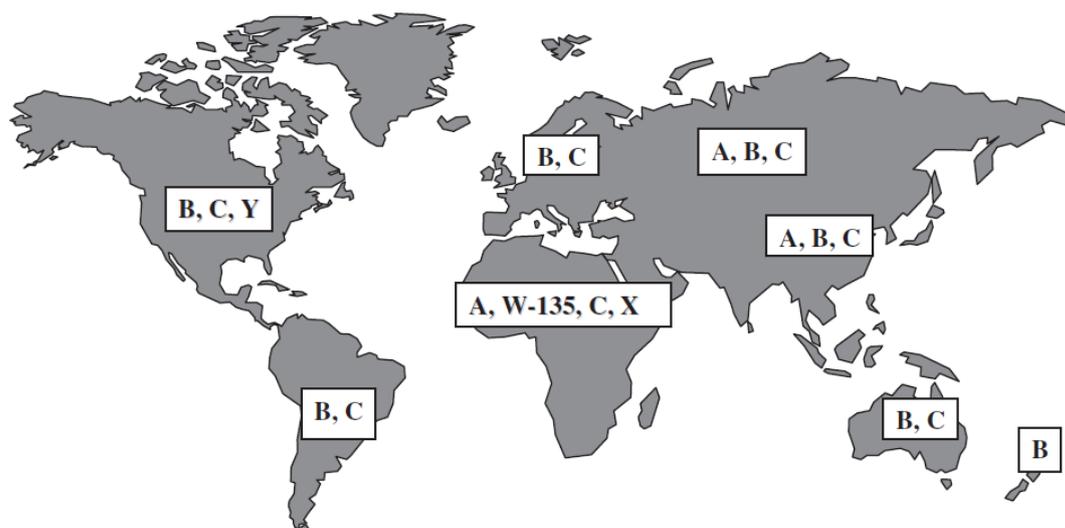
Com base na composição química de sua cápsula, os meningococos são divididos em 12 sorogrupos (A, B, C, E [29P chamado anteriormente], H, I, J, L, W [W135 anteriormente], X, Y, e Z). A variabilidade antigênica das porinas B (PorB) e A (PorA) definem o sorotipo e o soro-subtipo, respectivamente (LEWIS; RAM, 2014).

As infecções humanas causadas pelo meningococo continuam a ser um grave problema de saúde pública, infectando de 500 mil a 1,2 milhões de pessoas e matando entre 50.000 e 135.000 de pessoas por ano em todo o mundo (ROUPHAEL; STEPHENS, 2012).

Quase 90% das infecções invasivas por Nm em todo o mundo são causadas por seis destes sorogrupos; A, B, C, W, X e Y (LEWIS; RAM, 2014). A prevalência relativa varia com o tempo e localização geográfica (Figura 2). A DM acomete indivíduos de todas as faixas etárias, porém apresenta uma incidência quase 10 vezes maior em crianças menores de 2 anos de idade (SCHULTZ et al., 2008).

A África sub-saariana é considerada como tendo a maior incidência anual da DM no mundo, o sorogrupo A tem sido a causa mais importante da doença, embora os surtos causados pelos sorogrupos C e W135, e mais recentemente pelo sorogrupo X, também ocorreram. Na Europa, a maioria dos casos são causados pelo sorogrupo B, em particular nos países que introduziram as vacinas meningocócicas conjugadas contra o MenC (Meningococo C). Um padrão semelhante é relatado na Oceania. Nas Américas, a incidência da DM é na gama de 0,3-4 casos por 100.000 habitantes. Nos Estados Unidos, a maioria dos casos é causada pelos sorogrupos B, C e Y. Na América Latina, os sorogrupos B e C causam a maioria dos casos. E na Ásia são mais prevalentes os sorogrupos A e C (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Figura 2. Distribuição mundial da doença meningocócica invasiva por sorogrupo.



Legenda: A – sorogrupo A; B – sorogrupo B; C – sorogrupo C; W-135 – sorogrupo W-135; X – sorogrupo X, Y - sorogrupo Y.

Fonte: Stephens, 2007.

No Brasil cerca de 3500 casos de doença meningocócica são relatados anualmente, com uma incidência média de 2 casos / 100.000 habitantes e uma taxa de letalidade de 20% (GORLA et al., 2012). Contudo, desde 2000, o Brasil tem experimentado um aumento no sorogrupo C, que hoje responde por 81,5% dos casos notificados (SÁFADI; CINTRA, 2010).

Os seres humanos são o único hospedeiro natural para o meningococo, um membro frequente de faringe humana e flora respiratória superior. Entre 8% e 25% da população em geral podem ser portadores assintomáticos, traduzindo-se em centenas de milhões de veículos de transmissão em todo o mundo, sendo que os adolescentes são considerados um importante reservatório. A principal via de transmissão meningocócica é o contato de pessoa para pessoa através de gotículas respiratórias ou secreções orais de um portador assintomático ou indivíduo com doença invasiva (DICKINSON; PÉREZ; CUEVAS, 2012; SÁFADI; BEREZIN; OSELKA, 2012; STEPHENS, 2007).

O período de incubação da doença varia entre um e dez dias, mas a média é de 2 a 4 dias. A síndrome se apresenta sob uma enorme diversidade de manifestações clínicas, desde quadros assintomáticos, com bacteremia inaparente benigna, até septicemia com ou sem meningite, podendo ter evolução fulminante em poucas horas. Nos casos de meningococemia, com ou sem o comprometimento do Sistema Nervoso Central (SNC), o início é, geralmente, brusco, com febre, calafrios, mal estar e prostração, podendo

evoluir com quadros de manifestação cutânea, associado a distúrbios de coagulação e à síndrome de Waterhouse-Friderichsen (DICKINSON; PÉREZ; CUEVAS, 2012; OLIVEIRA et al., 2004; WILHELM B.; VILLENA M., 2012).

Manifestações clínicas como artrite, miocardite, pericardite, pneumonia e conjuntivite, embora possíveis, são menos frequentes. A apresentação clínica clássica, com manifestações hemorrágicas na pele, presença de sinais meníngeos, sinais de choque e alterações da coagulação é altamente sugestiva do diagnóstico de doença meningocócica, porém nas formas não tão ricas em sinais e, mesmo para confirmação de diagnóstico etiológico de casos sugestivos, é necessário o isolamento da bactéria no sangue, no líquido e/ou outros líquidos corporais. As provas de detecção de antígenos no líquido, no sangue e na urina são também altamente sensíveis e específicas, permitindo o diagnóstico sorológico da doença meningocócica (OLIVEIRA et al., 2004).

A gravidade da DM, a ocorrência de epidemias, a possibilidade da disseminação de cepas muito virulentas ou resistentes aos antibióticos, fazem com que a prevenção através de vacinas efetivas e de baixo custo seja considerada uma das prioridades em saúde pública (BRICKS, 2002).

As deficiências imunológicas, particularmente a deficiência de frações do complemento (C3 e C5), hipogamaglobulinemia e agamaglobulinemia, asplenia anatômica ou funcional e imunodeficiência causada pelo HIV, são fatores predisponentes à ocorrência de DM (LEPOW ML, PERKINS BA, HUGHES PA, 1999).

HIV e Doença Meningocócica

Estudos realizados em países desenvolvidos postularam uma associação entre o HIV e a DM (COULDWELL, 2001; MILLER et al., 2014; MORLA; GUIBOURDENCHE; RIOU, 1992; SIBERRY et al., 2012; STEPHENS et al., 1995). A infecção pelo HIV está relacionada com maior risco de infecções causadas por bactérias encapsuladas, tais como *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* (DICKOVER et al., 1994).

Estudos indicam que a incidência de meningite bacteriana é maior em pacientes com aids do que na população em geral. Isso pode ser diretamente relacionado a contagem de células CD4, uma vez que o risco de desenvolver meningite bacteriana é 40-50 vezes maior em adultos infectados pelo HIV com CD4 acima de 200 células/mm³, e é 400 vezes maior em pessoas com CD4 abaixo de 200 células/mm³ (RACHID M, 2005).

A infecção pelo HIV tem sido implicada como um fator de risco para o desenvolvimento e mortalidade por DM. Um estudo Sul-Africano mostrou que crianças infectadas pelo HIV têm 60 vezes maiores risco de desenvolver a DM em comparação com as crianças não infectadas pelo HIV (COHEN et al., 2010).

A HAART atenua o risco de infecção bacteriana e melhora a resposta a vacinas, mas crianças que recebem HAART continuam a ter maiores taxas de infecções bacterianas e demonstram pior resposta às vacinas do que crianças não infectadas pelo HIV (ABZUG et al., 2006; SIBERRY et al., 2010). Estudos que relacionam DM e HIV ainda são limitados (MILLER et al., 2014).

Vacinas Meningocócicas

O papel dos anticorpos circulantes e do complemento na proteção contra a doença meningocócica foi demonstrado no final da década de 60. Os anticorpos com capacidade de ativar o sistema complemento gerando lise bacteriana (anticorpos bactericidas) presentes no sangue apresentam correlação positiva com proteção à DM. GOLDSCHNEIDER; GOTSCHLICH; ARTENSTEIN (1969a, 1969b) observaram uma correlação inversa entre a incidência da doença e a prevalência dos anticorpos bactericidas no soro de crianças de diferentes faixas etárias.

Os anticorpos bactericidas específicos para o meningococo ligam-se à superfície da célula alvo através de proteínas ou de carboidratos específicos de porções dos meningococos. A subunidade C1q se une à porção Fc da Ig ligada à superfície da bactéria. A ligação da Ig a C1q ativa a via clássica do complemento que resulta finalmente na morte da célula alvo. A indução de anticorpos bactericidas dependentes do complemento após a vacinação com o polissacarídeo meningocócico ou vacinas conjugadas a proteínas é considerado como evidência aceitável da eficácia potencial destas vacinas (BORROW; BALMER; MILLER, 2005).

Gotschlich, Goldschneider e Artenstein foram os primeiros a extrair polissacarídeos meningocócicos e demonstrar a sua imunogenicidade. Seus esforços, em colaboração com o Instituto Merieux levaram à produção da primeira vacina meningocócica eficaz em 1972. A vacina meningocócica polissacarídica conjugada tetravalente (contra os sorogrupos A, C, W-135 e Y) foi licenciada para uso nos Estados Unidos em 1981. Embora geralmente seguras e eficazes, vacinas polissacarídicas não conjugadas não recrutam células T e como resultado, têm várias limitações, incluindo a

proteção de curta duração e ineficácia em crianças menores de 2 anos. Além disso, repetidas doses de polissacarídeos não conjugados podem induzir a hiporreatividade imunológica (LEWIS; RAM, 2014; STEPHENS, 2007).

A conjugação de polissacarídeos a proteínas resulta em vacinas que recrutam células T e induzem respostas de anticorpos anti-polissacarídicos mais elevadas que persistem por mais tempo e induzem memória imunológica (LEWIS; RAM, 2014; PATEL et al., 2014). As células B, ao reconhecerem o polissacarídeo, processam o carreador protéico conjugado e apresentam os epítomos peptídicos às células T-CD4+. Esse complexo antigênico induz a produção de níveis elevados de anticorpos, inclusive em lactentes jovens, maior avidéz dos anticorpos e maior atividade bactericida sérica. Induzem, ainda, a formação de populações de linfócitos B de memória, de duração prolongada. Além disso, essas vacinas têm a capacidade de reduzir a colonização da nasofaringe, diminuindo o número de portadores entre os vacinados e a transmissão da doença na população (SÁFADI; BARROS, 2006).

Atualmente, várias vacinas meningocócicas polissacarídicas conjugadas estão disponíveis em várias partes do mundo: as vacinas polissacarídicas conjugadas tetravalentes (sorogrupos A, C, W e Y) (Menactra, Menveo, e Nimenrix), um grupo bivalente C / Y de vacinas meningocócicas polissacarídicas em combinação com *Haemophilus influenzae* (MenHibrix) e vários sorogrupos monovalentes de vacinas polissacarídicas conjugadas (por exemplo, as vacinas contra MenC: Meningitec, Menjugate, e NeisVac-C) (DICKINSON; PÉREZ; CUEVAS, 2012; LEWIS; RAM, 2014).

Vacinas meningocócicas em pacientes HIV

No Brasil, vacinas meningocócicas conjugadas do sorogrupo C (MCC) são fornecidas pelo Ministério da Saúde desde 2006 para pacientes infectados pelo HIV com menos de 13 anos. No final de 2010, a vacina MCC foi introduzida no calendário vacinal de crianças menores de 2 anos de idade. (SÁFADI et al., 2013).

Nos Estados Unidos, o Comitê consultivo em Práticas de Imunização (ACIP) do Center for Diseases Control and Prevention (CDC) recomendou a vacina meningocócica conjugada com polissacarídeo quadrivalente (sorogrupos A, C, Y e W-135) (MCV4) como parte do calendário de imunização para adolescentes (11 anos de idade ou mais)

desde 2005. Esta recomendação foi posteriormente expandida para crianças de 2 a 10 anos de idade (CDC, 2013).

Frequentemente, os efeitos colaterais destas vacinas se restringem à dor, endurecimento e hiperemia locais, embora mais raramente, reações sistêmicas como irritabilidade, calafrios e febre de baixa intensidade possam perdurar por 48 horas (BRASIL, 2009).

O esquema de imunização de rotina atualmente licenciado no Brasil para as vacinas meningocócicas conjugadas à toxina diftérica mutante (MCC-CRM197 Meningitec® e Menjugate®) é de três doses, a partir dos 2 meses de idade, com intervalo mínimo de 1 mês entre as doses e para a vacina meningocócica conjugada ao toxóide tetânico (MCC-TT Neisvac-C®) é de duas doses, a partir dos 2 meses, com intervalo mínimo de 2 meses entre as doses. Para crianças acima de 1 ano de idade, adolescentes e adultos, qualquer uma das vacinas deverá ser usada em dose única (SÁFADI; BARROS, 2006).

Um dos pilares do tratamento do HIV é o uso de vacinas para doenças evitáveis. Sabe-se que a imunização de rotina é menos eficiente em indivíduos infectados com o HIV que na população em geral. Os danos causados pelo HIV estão associados com a replicação viral razoavelmente constante e tem um grande efeito sobre a memória imunológica induzida por vacinas (MOSS; CLEMENTS; HALSEY, 2003; OBARO; PUGATCH; LUZURIAGA, 2004).

A vacina MCC demonstrou ser segura e imunogênica em muitas populações de alto risco, com resultados de acordo com o grau de imunossupressão (BERTOLINI et al., 2012; FROTA et al., 2014; SPOULOU et al., 2011; ZLAMY et al., 2011; ZONNEVELD-HUIJSSOON et al., 2007). Existem, entretanto, poucos dados sobre o uso dessa vacina em crianças e adolescentes infectados pelo HIV (BERTOLINI et al., 2012; FROTA et al., 2014; SIBERRY et al., 2012).

A MCV4 demonstrou ser segura e bem tolerada em jovens infectados pelo HIV, contudo, foi observado que, especialmente para o sorogrupo C, são necessárias duas doses da vacina em indivíduos infectados pelo HIV para ultrapassar as menores taxas de resposta em jovens hígidos a uma dose da vacina (SIBERRY et al., 2012). Como resultado, o ACIP recomenda agora que a imunização meningocócica inicial daqueles com infecção por HIV consista de uma série de imunização primária de 2 doses (CDC, 2013).

Embora o uso da vacina quadrivalente seja recomendado nos Estados Unidos, a única vacina meningocócica conjugada disponível na rede pública no Brasil e na maioria dos outros países é contra o sorogrupo C apenas. Embora o uso desta vacina seja recomendado nas diretrizes para o tratamento pediátrico de HIV/AIDS, existem ainda poucos dados sobre a sua eficácia. Portanto, a investigação da resposta imune induzida por estas vacinas em crianças e adolescentes com HIV pode fornecer informações relevantes sobre a eficiência destas vacinas neste grupo particular de indivíduos que apresentam restrições importantes do sistema imune.

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Avaliar a resposta de anticorpos de pacientes infectados pelo HIV após imunização contra o meningococo C.

1.2 Objetivos específicos

- Comparar a resposta de anticorpos bactericidas após a imunização contra o MenC utilizando as cepas N753/00 e N79/96 de *Neisseria meningitidis*;
- Avaliar a resposta de anticorpos IgG anti -PS-C após a imunização e dose reforço da vacina meningocócica conjugada contra o MenC em um grupo de crianças e adolescentes infectados pelo HIV;
- Correlacionar a resposta de anticorpos bactericidas com a resposta de anticorpos IgG anti-PS-C em crianças e adolescentes infectados pelo HIV imunizados com a vacina meningocócica conjugada contra o MenC.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 População de estudo

Foi realizado um estudo de coorte prospectivo com crianças e adolescentes infectados verticalmente pelo HIV atendidos no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil, no período de fevereiro de 2011 a dezembro de 2012.

Os critérios para elegibilidade do estudo foram: crianças e adolescentes com faixa etária de 2 a 18 anos, sem imunização prévia com qualquer vacina MCC, infectados pelo HIV em TARV por mais de 3 meses, com ausência de supressão imunológica grave (classificação da OMS grau 3-4), e contagem de células CD4 igual ou acima de 350 células/mm³ e ou 15% no início do estudo. Os critérios de inclusão e exclusão estão descritos no Apêndice C.

Os pais de todos os participantes ou responsáveis legais assinaram termo de consentimento, bem como os participantes que estavam cientes de sua condição de infecção pelo HIV (Apêndice A). O estudo foi aprovado pelo Conselho de Revisão Institucional do IPPMG (IRB, número 24/09) e Comissão Ética do Ministério da Saúde (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, CONEP, número 15578) (Apêndice B).

Os resultados de segurança da vacina e mais detalhes da população de estudo podem ser encontrados na literatura (FROTA et al., 2014).

2.2 Imunização e obtenção das amostras de sangue

Os indivíduos receberam duas doses (0,5 ml intramuscular) de vacina MCC, via intramuscular, formulada para conter 10µg de oligossacarídeo meningocócico do grupo C conjugado à aproximadamente 15µg de proteína CRM₁₉₇ de *Corynebacterium diphtheriae*, produzida por Chiron/Novartis Vaccines, Siena, Itália. A vacina foi fornecida pelo Ministério da Saúde do Brasil. Os eventos adversos foram avaliados aos 20 minutos, 3 e 7 dias após a imunização.

Amostras de sangue foram coletadas antes da imunização (V1) e 1-2 meses após (V2), 1 ano após a imunização (V3) e 1-2 após a dose reforço (V4). Os soros obtidos após centrifugação foram estocados a -70°C no IPPMG e posteriormente transferidos para nosso laboratório e mantidos -20°C .

2.3 Ensaio bactericida

Este ensaio foi realizado conforme técnica previamente descrita por MASLANKA et al., 1997. Duas cepas locais de *Neisseria meningitidis* sorogrupo C, foram utilizadas como alvo: N79/96 [C: P1.5-2, 10: F5-2: ST-153 (cc8)], e N753/00 [C: P1.22, 14-6: F3-9: ST-5122 (cc103)], ambas fornecidas pelo Instituto de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Essas linhagens foram isoladas de pacientes brasileiros com doença invasiva. Resumidamente, a reação final (50 μl) consistiu de diferentes diluições (25 μl) dos soros testes (previamente inativados a 56°C por 30 min.) em solução de tampão fosfato (PBS), pH 7,2-7,4, contendo 0,3% de soro albumina bovina (BSA), cálcio 0,98mMol e magnésio 1mM, 12,5 μl de soro humano puro ou diluído a 1:2 como fonte de complemento e 12,5 μl da suspensão bacteriana ($\sim 5 \times 10^3$ unidades formadoras de colônias/ml). Após incubação a 37°C por 60 minutos adicionou-se ágar acrescido de VCNT (vancomicina: 1,5mg; sulfonato metano colistina: 3,75mg, trimetropim: 2,5mg e nistatina: 6.250 unidades, Laborclin) para parar a reação. Seguiu-se incubação a 37°C por 16 horas em 5% de CO_2 e as colônias foram contadas em microscópio estereoscópio (aumento de 40 vezes). O título de anticorpo bactericida do soro (SBA) foi definido como a recíproca da maior diluição do soro teste resultando em pelo menos 50% de morte bacteriana.

Todos os soros foram submetidos a um controle para a confirmação da presença de antibióticos. Neste controle, foram adicionados 25 μl de soro teste inativado diluído 1:2 em solução de PBS/BSA, 12,5 μl da fonte de complemento inativada a 56°C e 12,5 μl da suspensão bacteriana ($\sim 5 \times 10^3$ UFC/ml).

Cada título foi definido após 2 resultados iguais com a margem de erro de um título para mais ou para menos. Pacientes com título ≤ 2 foram considerados negativos para estes anticorpos.

A soroproteção foi definida como SBA $\geq 1:4$. A soroconversão foi definida como um aumento ≥ 4 vezes (ou 2 títulos) entre os títulos pré- e pós-vacinais.

2.4 ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

O ELISA utilizado foi adaptado de GHEESLING et al., 1994. Os 96 orifícios da microplaca Maxisorp (NUNC) foram sensibilizados com uma mistura de Polissacarídeo C (PSC) e mHSA (methylated human serum albumin) doados pelo Instituto BioManguinhos, Fiocruz, ambos a uma concentração final de 5 μ g/ml em PSB 0,01M, pH: 7,4, azida 0,05%. As microplacas foram incubadas overnight a 4°C e utilizadas em até 2 semanas.

As microplacas foram lavadas 4 vezes em Lavadora automática (Thermo Plate TP-washer) com solução de lavagem (PBS 1x/T20 0,05%) e em seguida, incubadas por 1 hora a temperatura ambiente com solução de bloqueio (SFB/T20 0,05%/PBS 0,01M). Após o bloqueio, foram adicionados 50 μ l de diluições seriadas do soro padrão, soros testes e controles positivo e negativo diluídos em PBS 5% SFB 5% 0,05% T20 e a reação foi incubada overnight a 4°C. Após este período, as microplacas foram lavadas e adicionado o anti-IgG humano conjugado com peroxidase (marca Sigma) diluído 1:500 em solução SFB/T20 0,05%/PBS 0,01M e incubado a 37°C por 2 horas. As microplacas foram lavadas novamente e adicionado o substrato enzimático (H₂O₂ 0,9%) em tampão citrato, pH 5,0, contendo OPD (o-phenylenediamine) 1mg/ml. Em seguida, incubou-se no abrigo de luz por 30 minutos. A reação foi parada com 25 μ l de H₂SO₄ 4N e realizado a leitura das Densidades Óticas (DOs) em espectrofotômetro (Elisa-Biotek Modelo Epoch) a 490nm com auxílio do software Gen5 (versão2.01).

As concentrações de IgG dos soros testes foram calculadas utilizando-se o Software ELISA do Center of control diseases (CDC), versão 2.15. Utilizamos um soro positivo de indivíduo vacinado contra MenC como o soro padrão para realização da curva de concentração versus diluição do soro e cálculo da concentração de IgG dos soros testes. Ao soro padrão foi definido arbitrariamente 1000UI de IgG anti-PS-C por mililitro. Controles positivos e negativos foram utilizados em cada placa de ELISA.

2.5 Análises estatísticas

Os níveis de significância das diferenças entre os grupos foram calculados por testes não paramétricos pareados (Wilcoxon matched pairs test) ou não pareados (Mann-Whitney test) ou correlações não paramétricas (Spearman), admitindo-se (95% de intervalo de confiança (95% IC). Todas estas análises estatísticas foram realizadas no GraphPad-Prism, versão 4.02 (GraphPad Software, Inc., EUA). As diferenças entre os percentuais de soroconversão ou soroproteção foram analisadas pelo software Epi Info™ 6.04d, CDC.

3. RESULTADOS

3.1 Resposta de anticorpos bactericidas

Foram analisadas 558 amostras de soros de 154 crianças e adolescentes infectados pelo HIV. A média de idade foi de 15 anos, 53,9% do sexo feminino e 46,1% do sexo masculino, 58,4% dos participantes estavam com carga viral indetectável. A média de linfócito TCD4 foi de 767 células/mm³ e a média de TCD4 nadir (menor contagem de TCD4+ registrada) foi de 433,9 células/mm³. Esses pacientes estavam, em média, há 8 anos em uso de HAART e 53,2% já apresentavam imunodepressão grave, isto é, classificação de categoria clínica C (CDC, 2013), como descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Características gerais da população de estudo.

Média de idade (n:154)	15 anos ±4
Sexo (n:154)	Feminino = 53,9% Masculino = 46,1%
% CV indetectável (n:154)	58,4%
Média de TCD4 atual (n:151)	767 células/mm ³ ±416
Média de TCD4 nadir (n:151)	433,9 células/mm ³ ±514
Média de Tempo de HAART (n:134)	8 anos ±4
% Categoria Clínica C (CDC) (n:154)	53,2%

Legenda: carga viral (CV); menor contagem de TCD4 registrada (TCD4 nadir); Terapia antirretroviral altamente ativa (HAART); número amostral (n).

Fonte: A autora, 2015.

No primeiro momento, foi avaliada a resposta de anticorpos bactericidas para as cepas N79/96 e N753/00 (Tabela 2). Ao comparar a resposta de anticorpos das duas cepas de MenC, observamos percentuais similares ($P > 0,05$) de soroconversão após a primeira dose utilizando a cepa N79/96 (21,4%) e a cepa N753/00 (19,5%). Entretanto, um ano após a imunização (V3) houve redução acentuada no percentual de soroconversão para

N79/96 (6,9%, $P = 0,0006$) e para N753/00 (10,1%, $P = 0,028$). Porém, a frequência de anticorpos bactericidas para as duas cepas não foi estatisticamente diferente em V3.

Conforme pode ser observado na Tabela 2, houve a necessidade da dose reforço para se obter soroconversão satisfatória nesses pacientes infectados pelo HIV, com maior taxa de soroconversão para a cepa N79/96 (75%) comparada com 70% para a cepa N753/00 ($P > 0,05$).

Outrossim, observamos diferenças entre os percentuais de títulos ≥ 2 (\log_2) ao comparar a resposta de anticorpos contra cada cepa de MenC em todas as visitas. Contudo, não houve diferenças significantes em V2 e V4 entre as cepas de MenC testadas. Mas, em V3 foi observado que o percentual de indivíduos com soroconversão apresentou uma queda mais significativa para a cepa N79/96 em comparação com a N753/00 ($P = 0,048$). Logo, houve redução de memória sorológica mais acentuada para a N79/96 um ano após a imunização.

A mediana de SBA não apresentou diferenças estatisticamente significantes em V2 e V4 entre as cepas avaliadas (Tabela 2). Estes resultados evidenciam que a resposta à vacina MCC é semelhante para ambas as cepas.

Tabela 2. Resposta de anticorpos bactericidas (SBA) contra MenC após vacinação.

Cepas	N79/96				N753/00			
	V1 (n:154)	V2 (n:154)	V3 (n:130)	V4 (n:120)	V1 (n:154)	V2 (n:154)	V3 (n:129)	V4 (n:121)
Mediana de título SBA (\log_2)	0	0	0	7	0	1	0	6
% soroconversão	-	21,4	6,9	75	-	19,5	10,1	70,2
% título ≥ 2 (\log_2)	4,5	26,6	10	78,3	12,3	31,2	18,6	76

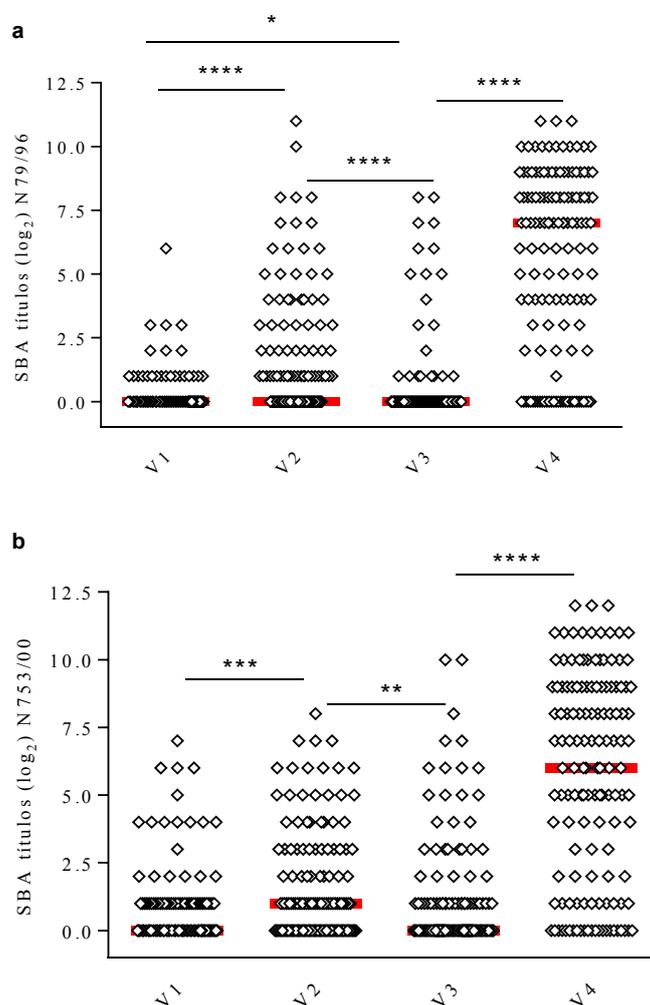
Legenda: visita pré-vacinal (V1); visita 1-2 meses após a imunização (V2); 1 ano após a vacinação (V3); visita 1-2 meses após a dose reforço (V4); anticorpos bactericidas (SBA); aumento de 2 vezes dos títulos de anticorpos bactericidas (soroconversão); meningococo C (MenC); número amostral (n).

Fonte: A autora, 2015.

Podemos observar pela Figura 3, que os títulos anticorpos aumentaram ($P < 0,0001$) de V1 para V2 e de V3 para V4 ($P < 0,0001$) para as duas cepas testadas. Foi observada também, diminuição significativa dos títulos um ano após a imunização (V3) para ambas as cepas, sendo mais expressivo para N79/96 ($P < 0,0001$, Figura 3A) do que para N753/00 ($P = 0,005$, Figura 3B). Destaca-se que a mediana de anticorpos em V3 para a cepa N79/96 foi maior que a registrada em V1 ($P = 0,04$). O mesmo não foi visto para a cepa N753/00 ($P = 0,06$), reconhecida por frequências similares de indivíduos tanto em V1 quanto em V3.

Ao comparar a mediana dos anticorpos bactericidas entre as cepas N79/96 e a N753/00 em cada visita, foram observadas diferenças significantes nas amostras pré-vacinais ($P < 0,0001$) e um ano após a primeira dose ($P = 0,0002$). Em V2 e V4 não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas respostas para as duas cepas.

Figura 3. Mediana de anticorpos bactericidas (SBA) para as cepas N79/96 (a) e N753/00 (b) antes e após a vacinação contra o MenC.



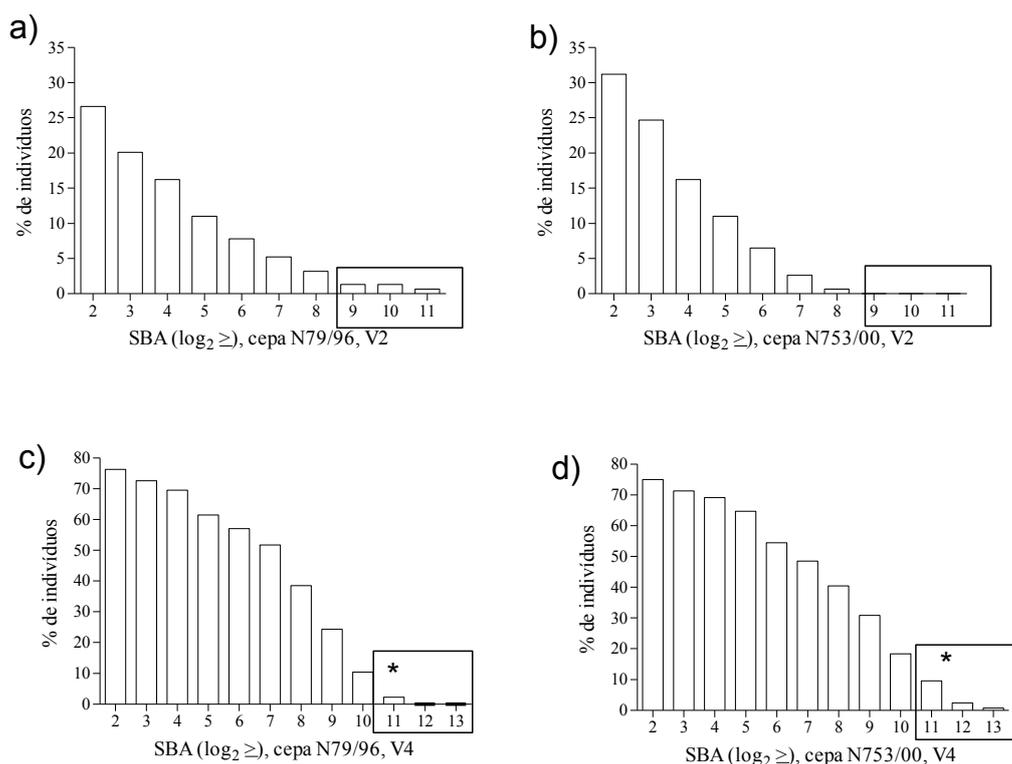
Legenda: V1 - visita pré-vacinal; V2 - visita 1-2 meses após a imunização; V3 - 1 ano após a vacinação; V4 - visita 1-2 meses após a dose reforço; * - P valor = 0,04; ** - P valor = 0,005; *** - P valor=0,001; **** - P valor < 0,0001.

Nota: A linha vermelha corresponde a mediana dos anticorpos bactericidas (SBA).

Fonte: A autora, 2015.

Com o objetivo de comparar a soroconversão utilizando as duas cepas de MenC descrevemos na Figura 4 o percentual de indivíduos com diferentes títulos de SBA para cada cepa nas amostras V2 e V4. Após a primeira imunização (V2) não houve diferenças significantes na frequência de indivíduos com diferentes títulos de SBA. Observa-se, porém, títulos de 9 a 11 (\log_2) para a cepa N79/96 (Figura 4A), mas não para a cepa N753/00 (Figura 4B). O oposto foi visto após a dose reforço (V4), onde registramos SBA mais elevados para a cepa N753/00 (\log_2 até 13, Figura 4D). Mas, foi observado maior percentual de indivíduos com título de SBA igual a 11 (\log_2) contra a N753/00 (10%, $P < 0,05$) comparado com a cepa N79/96 (Figura 4D e C, respectivamente), sugerindo maior resposta de memória para a cepa N753/00.

Figura 4. Percentual dos títulos de SBA (\log_2) para as cepas N79/96 (a e c) e N753/00 (b e d) após a imunização (V2) e após a dose reforço (V4) contra o MenC.



Legenda: SBA - anticorpos bactericidas; V2 - visita 1-2 meses após a imunização; V4 - visita 1-2 meses após a dose reforço; * - $P < 0,05$.

Fonte: A autora, 2015.

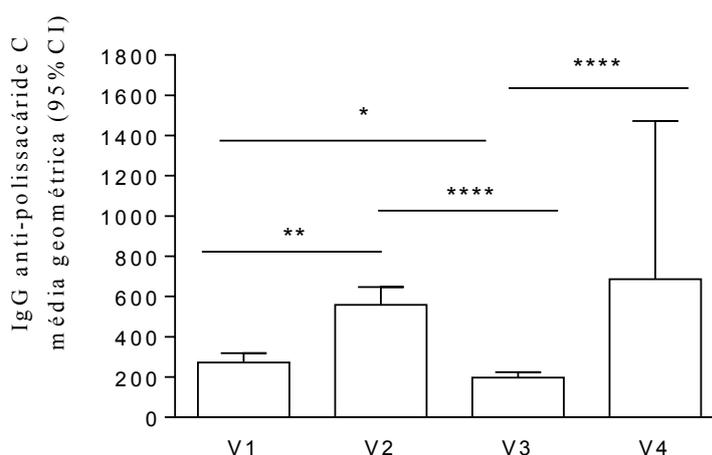
Em geral, esses resultados refletem a dificuldade desses pacientes em manter a memória sorológica por longos períodos e confirma a necessidade de uma dose reforço nessa população com imunodepressão.

3.2 Resposta de IgG contra o polissacarídeo C (PS-C)

No segundo momento, foi realizado o ELISA com 96 amostras de soros de 24 pacientes para avaliar a resposta de IgG contra o PS-C. Na Figura 5, ao analisar as concentrações de IgG anti-PS-C para cada visita, foi observado aumento significativo dos níveis de anticorpos após a primeira e segunda dose da vacina quando comparados com os níveis pré-vacinais ($P = 0,001$ e $P < 0,001$, respectivamente).

Destaca-se a queda acentuada da concentração de IgG um ano após a primeira dose (V3), atingindo níveis inferiores ($P < 0,0001$) àqueles observados antes da primeira vacinação. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre V2 e V4. Esses dados corroboram os resultados obtidos no ensaio bactericida.

Figura 5. Comparação das Médias Geométricas (95% IC) das concentrações de IgG anti PS-C nas quatro visitas (V1 a V4) dos pacientes HIV.



Legenda: V1 - visita pré-vacinal; V2 - visita 1-2 meses após a imunização; V3 - 1 ano após a vacinação; V4 - visita 1-2 meses após a dose reforço; * - $P < 0,04$; ** - $P = 0,001$; **** - $P < 0,001$; IC - intervalo de confiança.

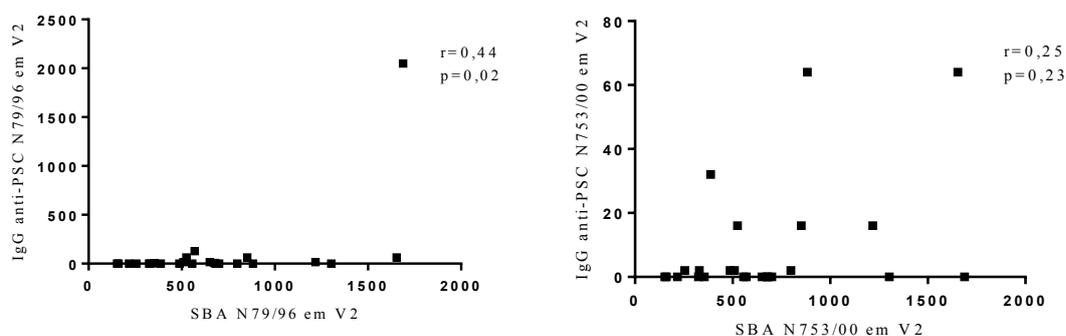
Fonte: A autora, 2015.

Avaliou-se ainda a soroconversão definida pelo ELISA, isto é, o aumento de no mínimo 2 vezes nas concentrações de IgG anti-PS-C entre as amostras V1 e V2 e entre V3 e V4. Foi observado 50% de soroconversão de V1 para V2 e 71% de soroconversão após a segunda dose, contudo não houve diferenças significativas entre a primeira e a segunda dose ($P > 0,05$).

3.3 Associações entre anticorpos bactericidas contra MenC e IgG anti-PS-C

As correlações entre SBA e IgG anti-PS-C são apresentadas nas Figuras 6 e 7. Observamos correlações estatisticamente significantes após a primeira dose (V2) para a cepa N79/96 (Figura 6) e após a dose reforço (V4) para as duas cepas testadas (Figura 7). Não foi encontrada correlação significativa antes da primeira dose (V1) e a um ano após a primeira dose (V3) (dados não mostrados).

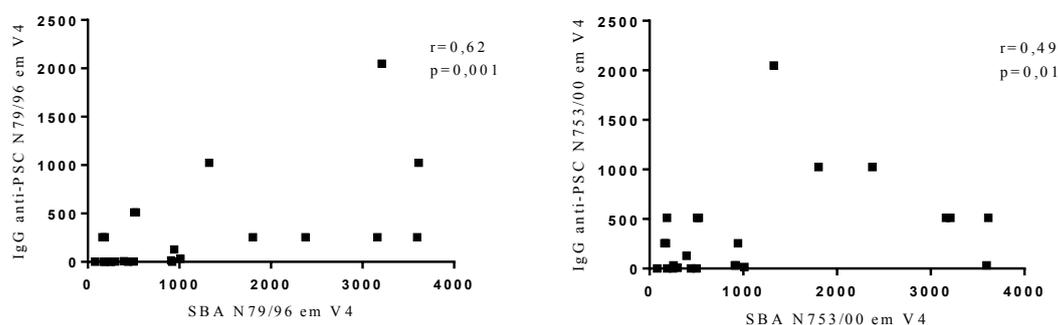
Figura 6. Correlação entre anticorpos bactericidas do soro e as concentrações de IgG anti-PS-C após a primeira dose da vacina (V2) para as cepas N79/96 e N753/00.



Legenda: V2 - visita 1-2 meses após a imunização; SBA - anticorpos bactericidas; PS-C - polissacarídeo C.

Fonte: A autora, 2015.

Figura 7. Correlação entre os SBA e as concentrações de anticorpos IgG anti-PS-C após a dose reforço da vacina (V4) para as cepas N79/96 e N753/00.

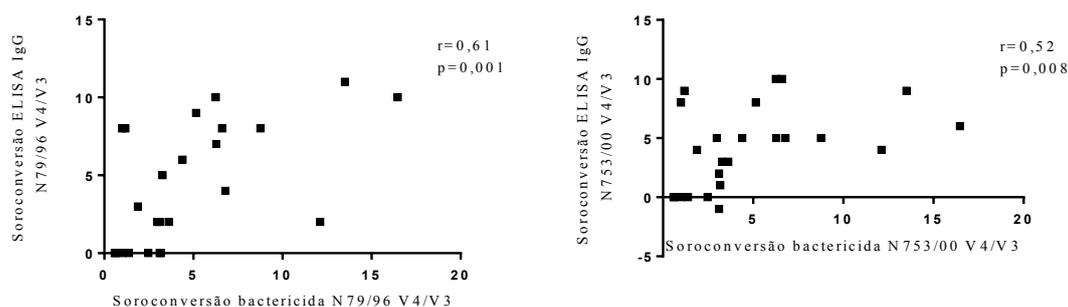


Legenda: V4 - visita 1-2 meses após a dose reforço; SBA - anticorpos bactericidas; PS-C - polissacarídeo C.

Fonte: A autora, 2015.

Para ambas as cepas, houve correlação estatisticamente significativa entre a soroconversão avaliada pelo SBA e pelo ELISA após a dose reforço (Fig. 8). Contudo, o mesmo não foi observado após a primeira dose da vacina (dados não mostrados).

Figura 8. Correlação entre a soroconversão definida pelo ensaio bactericida e pelo ELISA IgG após a segunda dose da vacina.



Legenda: V3 - 1 ano após a vacinação; V4 - visita 1-2 meses após a dose reforço; Soroconversão SBA - aumento de pelo menos 2 títulos de anticorpos bactericidas de V3 para V4; soroconversão ELISA IgG - aumento de no mínimo 2 vezes nas concentrações de IgG anti-PS-C entre as amostras V3 e V4.

Fonte: A autora, 2015.

4. DISCUSSÃO

Desde a década de 90 tem sido estudada a associação entre a DM e a infecção pelo HIV (MORLA; GUIBOURDENCHE; RIOU, 1992; STEPHENS et al., 1995). Maior susceptibilidade à infecção por bactérias encapsuladas e menor resposta à vacinação são alguns dos principais efeitos da infecção pelo HIV relatados na literatura (DICKOVER et al., 1994; MOSS; CLEMENTS; HALSEY, 2003; OBARO; PUGATCH; LUZURIAGA, 2004). Contudo, estudos sobre este assunto ainda são limitados (MILLER et al., 2014).

Imunizações com vacinas conjugando a cápsula polissacarídica meningocócica com proteínas induzem repostas T dependentes e têm demonstrado serem capazes de reduzir a incidência da doença, não apenas em indivíduos vacinados, mas também no restante da população, em função da redução do número de portadores da bactéria na nasofaringe e consequente redução da transmissão do microrganismo. Estas vacinas induzem o desenvolvimento de células B de memória, essenciais para uma imunidade duradoura (BALMER; BORROW; MILLER, 2002; MAIDEN; STUART, 2002; PÖLLABAUER; PETERMANN; EHRLICH, 2005; RAMSAY et al., 2003).

As vacinas conjugadas meningocócicas do sorogrupo C foram licenciadas no Reino Unido, sem testes de eficácia, baseando-se na demonstração de segurança e imunogenicidade em termos de atividade bactericida do soro (SBA), que foi previamente estabelecido como uma medida indicativa de imunidade protetora ou um preditor de proteção; tem sido recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para avaliação das respostas imunes à vacina e validado como padrão ouro de correlato sorológico de proteção (ANDREWS; BORROW; MILLER, 2003; BORROW et al., 2001; MILLER; SALISBURY; RAMSAY, 2001; RAMSAY et al., 2001).

O correlato sorológico internacionalmente aceito de proteção contra a DM em indivíduos saudáveis é um título de SBA ≥ 4 quando o complemento de origem humana é usado ou um título de SBA ≥ 8 quando complemento de coelho bebê é usado (BERTOLINI et al., 2012; BORROW; BALMER; MILLER, 2005).

A vacina conjugada contra o meningococo C administrada em dose única é imunogênica em crianças saudáveis (BORROW et al., 2013; POELLABAUER et al., 2013). Imunizações de rotina são, em grande parte também seguras em crianças

infectadas pelo HIV, mas as respostas às vacinas podem ser prejudicadas pela disfunção imunológica induzida pelo vírus (MILAGRES et al., 2013).

No presente estudo, as crianças infectadas pelo HIV apresentaram resposta de anticorpos bactericidas insatisfatória após a primeira dose da vacina, de modo, que somente após a segunda dose evidenciaram boa resposta de anticorpos (75% de soroconversão para N79/95 e 70,2% de soroconversão para N753/00).

A resposta de anticorpos bactericidas observada em nosso estudo foi expressivamente menor do que a encontrada por BERTOLINI et al., 2012, na qual relataram que 72,1% das crianças e adolescentes infectados pelo HIV responderam a uma dose única de vacina conjugada contra o MenC, e esta taxa aumentou para 81,4%, quando receberam uma segunda dose da vacina.

Nosso estudo difere do realizado por BERTOLINI et al., 2012, em vários aspectos. Estes incluem, um critério de inclusão foi mais rigoroso para contagem de CD4 (contagem de CD4 > 350 para o nosso estudo vs. Contagem de CD4 >100). Nossa população era mais jovem e utilizou-se complemento humano para o nosso ensaio de SBA, enquanto BERTOLINI et al., 2012 utilizou complemento de coelho, o que pode ser mais sensível, mas menos específico, para estimar a imunidade protetora do que os ensaios que utilizam complemento humano.

FROTA et al., 2014 descreveram os resultados deste estudo após uma dose da vacina, mas sem considerar as variações encontradas na resposta de anticorpos bactericidas a cada cepa individualmente. O estudo também incluiu a resposta à vacina de crianças e adolescentes HIV-, mas que foram expostos ao vírus. Os autores descreveram que apenas 30% das crianças e adolescentes infectados pelo HIV responderam a vacina MCC, em comparação com 76% dos indivíduos não infectados pelo HIV. Demonstrando uma diferença acentuada na resposta à vacina nessa população com imunodepressão em comparação aos controles expostos ao vírus.

Um estudo realizado nos Estados Unidos avaliou a imunogenicidade e a segurança da vacina MCV4 em jovens de 11 a 24 anos de idade infectados pelo HIV. Os jovens com HIV foram divididos em três grupos: o primeiro, indivíduos com TCD4 \geq 15% que receberam 1 dose da vacina; o segundo, indivíduos com TCD4 \geq 15% que receberam duas doses da vacina (selecionados aleatoriamente na 24ª semana após a 1ª dose); e o terceiro grupo com indivíduos com TCD4 < 15% que também receberam 2 doses da vacina. Foi observado um número significativo de indivíduos HIV+ que não responderam ao MenC após 1 dose; 65% do grupo 1, 70% do grupo 2 e 83% do grupo 3. No entanto,

após a segunda dose, 64% dos indivíduos do grupo 2 e 22% do grupo 3 apresentaram soroproteção contra o MenC, indicando que a contagem de células TCD4 foi um fator importante para a resposta à vacina MCV4 neste estudo (LUJAN-ZILBERMANN et al., 2012) e a necessidade de 2 doses da vacina em pessoas com baixa contagem de linfócitos TCD4.

De fato, o ACIP do CDC e a Academia Americana de Pediatria (AAP) desde 2011 recomendam um programa de imunização com duas doses da vacina conjugada quadrivalente (MCV4) para crianças de 9 a 23 meses com risco aumentado para DM (CDC, 2013).

Na literatura, também é observado menor resposta dos pacientes HIV positivos a outras vacinas, tais como as vacinas conjugadas para bactérias extracelulares, como *Haemophilus influenzae* e *Pneumococcus*. Ambas induziram menor média geométrica das concentrações de anticorpos IgG em crianças infectadas pelo HIV em comparação com crianças não infectadas, mas expostas ao vírus. De modo, que duas doses também se demonstraram necessárias para segurança e imunogenicidade satisfatória destas vacinas (ABZUG et al., 2006; MADHI et al., 2005).

A investigação da resposta à vacinação oferece a oportunidade de detalhar as variáveis que podem afetar a reconstituição imune (ABZUG et al., 2006). Foram observados que os indivíduos com baixas contagens de TCD4 nadir no momento da imunização tinham respostas inferiores à vacinação, apesar dos indivíduos estarem em HAART, em estudos realizados com a vacina trivalente (*H. influenzae* + H1N1 + H3N2) e a vacina diftérica em adultos (KROON et al., 1998; LANGE et al., 2003).

Outro fator descrito na literatura é a idade em que a vacina é administrada, um estudo realizado em crianças saudáveis no Reino Unido que avaliou a persistência de anticorpos contra o MenC 6 a 7 anos após a imunização observou que as crianças menores de 5 anos apresentaram as menores taxas de manutenção de títulos de anticorpos protetores, ao passo que pacientes vacinados em idades mais avançadas apresentam respostas mais consistentes e duradouras. Evidenciando-se uma forte tendência para o aumento dos títulos de SBA com a idade (PERRETT et al., 2010).

KAAIJK et al., 2012 observaram que uma única dose da vacina MCC em crianças saudáveis maiores de 5 anos de idade induziu resposta de anticorpos bactericida significativa com duração maior que 4 anos. O contrário foi observado em crianças que receberam uma única dose aos 14 meses de idade.

SAKOU et al., 2009 observaram uma correlação altamente significativa entre a idade da imunização com uma vacina de dose única e a persistência de títulos de anticorpos bactericidas em crianças e adolescentes saudáveis. Três anos após a vacinação com a MCC, foi observado que apenas 14,1% das crianças menores de 6 anos mantinham anticorpos protetores ($SBA \geq 1:8$), ao passo que 37,8% das crianças entre 6 e 10 anos e 62,2% das crianças maiores de 10 anos ainda mantinham anticorpos bactericidas protetores.

O estudo de FROTA et al., 2014 com nossa população de estudo observaram que a ausência de um histórico de eventos de categoria clínica C do CDC, maior contagem de CD4/100 células nadir e carga viral indetectável na imunização foram fatores independentes associados à resposta imune ao MCC, contudo não foram encontradas correlações significativas entre título bactericida e idade. Todavia, é necessária a realização de mais estudos que comparem a resposta bactericida com a idade e com variáveis imunológicas das crianças infectadas com o HIV.

Em nosso estudo, foi observada uma queda significativa dos títulos de anticorpos bactericidas um ano após a imunização com a vacina conjugada contra o MenC para as cepas testadas, sendo mais acentuada para a cepa N79/96 ($P < 0,0001$) que para a N753/00 ($P = 0,005$). Uma coorte realizada por KHATAMI et al., 2011 avaliou a cinética do declínio dos anticorpos 10 anos após a imunização com a vacina MCC em crianças americanas saudáveis. Observou-se que apenas 15% das crianças que foram imunizadas de 1 a 3 anos de idade apresentaram níveis de anticorpos protetores.

Conforme descrito por SIBERRY et al., 2012, a duração da imunidade humoral induzida pela vacina MCV4 contra o MenC caiu significativamente 18 meses após a segunda dose da vacina em indivíduos HIV+ de 2 a 10 anos de idade, onde apenas 45% dos indivíduos apresentavam soroconversão (SBA) comparado com 80% um mês após a segunda dose. Uma dose da vacina induziu soroconversão em apenas 49% dos pacientes, inclusive seis meses após a primeira vacinação somente 33% dos indivíduos mostravam soroconversão (SBA). No entanto, os outros 3 polissacarídeos (A, W, Y) induziram uma resposta muito superior e duradoura tanto após a primeira (90-98%) quanto após a segunda dose (96-100%) da vacina. Outros estudos demonstram que o sorogrupo C apresenta as mais baixas taxas de resposta e de imunidade em comparação aos demais sorogrupos (LUJAN-ZILBERMANN et al., 2012; SIBERRY et al., 2010, 2012)

Defeitos nas funções das células B e T podem desempenhar um papel comum na susceptibilidade à infecção por bactérias encapsuladas (WING et al., 2012). A infecção crônica pelo HIV é caracterizada pela ativação imune persistente, traduzida em maior expressão de células T CD4 CD38+ e resposta policlonal de células B (DE MILITO et al., 2004; GIORGI et al., 1999; ZACCARELLI-FILHO et al., 2007).

MILAGRES et al., 2013 sugerem uma associação entre a falha na resposta a vacina MenC e a ativação de células TCD4. De fato, em seu estudo foi encontrada uma correlação negativa significativa entre as células T CD4+HLA-DR+CD38+CCR5+ e títulos de anticorpos bactericidas pós-vacinação.

Nossos dados mostraram que a resposta de anticorpos à imunização foi semelhante entre as cepas testadas após duas doses da vacina. Contudo, para a cepa N79/96 houve menor persistência de anticorpos bactericidas um ano após a primeira dose.

O polissacarídeo C (PS-C) é um homopolímero de ácido N-acetilneuramínico com grupos *orto*-acetil (OAc) ligados em resíduos C-7 ou C-8. Algumas cepas de MenC (12% de isolados invasivos) produzem polissacarídeo que não possui este grupo OAc. A presença ou ausência de grupos OAc geram epítomos únicos, e a especificidade de ligação do anticorpo ao PS-C pode afetar a sua atividade bactericida (ARAKERE; FRASCH, 1991; MICHON et al., 2000; RUBINSTEIN; STEIN, 1988).

Estudos pré-clínicos em ratos, que comparam quantidades variáveis de polissacarídeo OAc+ e OAc- demonstraram que a imunogenicidade foi inversamente correlacionada com o nível de OAc (FUSCO et al., 2007; MICHON et al., 2000). Um estudo realizado em humanos, demonstrou que a vacina MCC-TT (OAc-) induziu o dobro de ligações de IgG anti polissacarídeo C OAc- em comparação com a OAc+, sugerindo que 50% da IgG reconhece epítomos comuns da MenC, e 50% reconhece epítomos únicos gerados pela ausência da cadeia lateral OAc. Isso pode influenciar a atividade funcional contra as respectivas cepas de MenC (RICHMOND et al., 2001). No entanto, esta vacina gerou memória sorológica que foi ativada por ambas as formas de PS-C, OAc- e OAc+.

Entre as vacinas conjugadas atuais, destaca-se que enquanto as vacinas Menjugate®, Meningitec® contêm o polissacarídeo na forma OAc+, a NeisVac-C® possui o conjugado DOA. (BORROW et al., 2013; PÖLLABAUER; PETERMANN; EHRLICH, 2005). A circulação de cepas invasivas DOA pode aumentar com uso generalizado de vacinas conjugadas aos polissacarídeos C OAc+. Deste modo, MICHON et al., 2000 sugerem que o uso de polissacarídeo DOA numa vacina MCC pode aumentar sua imunogenicidade. Ainda, RICHMOND et al., 2001 sugerem que as cepas OAc- são

mais susceptíveis à lise medida pelo complemento dependente de anticorpos, devido a falta de grupos OAc, expondo mais epítomos para anticorpos funcionais específicos.

Vacinas conjugadas com PS-C OAc- foram avaliadas numa série de estudos clínicos no Reino Unido, onde mostrou ser bem toleradas e altamente imunogênicas em adultos, crianças e recém-nascidos. (BORROW et al., 2001, 2003; PELTOLA et al., 1985; RICHMOND et al., 1999, 2001; SOUTHERN et al., 2004). Segundo FUSCO et al., 2007, o PS-C OAc- da vacina pode proporcionar uma melhor proteção contra a doença meningocócica do que a forma OAc+. A vacina MCC-TT foi licenciada como a única com conjugado PS-C OAc- (NeisVac-C; Baxter Healthcare Corporation) em diversos países no mundo, sem falhas vacinais documentados durante os primeiros anos da campanha (PÖLLABAUER; PETERMANN; EHRLICH, 2005), contudo, ainda temos as duas formas de vacinas conjugadas sendo comercializadas no mercado.

No segundo momento, avaliamos a resposta de IgG contra o PS-C OAc+ através do ELISA com o intuito de correlacionar com os resultados do ensaio bactericida.

resultados do ELISA, com um pequeno número e indivíduos, indicaram concentrações similares de IgG após uma e duas doses vacina. Houve queda acentuada da concentração de IgG um ano após a primeira dose, atingindo níveis inferiores àqueles observados antes da primeira dose da vacina, mas uma resposta positiva à dose reforço, corroborando com os resultados obtidos no ensaio bactericida.

Observamos correlações estatisticamente significantes entre IgG anti-PS-C e títulos de SBA após a primeira dose (V2) para a cepa N79/96 e após a dose reforço (V4) para ambas as cepas. Esta correlação entre o SBA e o ELISA também foi observada por MICHON et al., 2000.

A presença ou não do radical OAc nas cepas de MenC pode ter influenciado essas associações entre IgG-PS-C (OAc+) e as respostas dos anticorpos bactericidas às cepas deste estudo, visto que a N79/96 é uma cepa OAc+ enquanto que a N753/00 é OAc-. Ao contrário dos estudos descritos acima, houve uma correlação positiva entre IgG anti-PS-C (OAc+) e SBA após uma dose da vacina MCC somente com a cepa OAc+ (N79/96). Porém, esta diferença foi eliminada após a segunda dose, sugerindo a formação de anticorpos de diferentes especificidades com o aumento do número de doses vacinais. Estes dados sugerem que são necessários estudos adicionais que comparem as repostas das vacinas com PS-C OAc+ e OAc- em indivíduos infectados com o HIV e indivíduos saudáveis.

Outro fator importante que precisa ser discutido, é que ao avaliar a resposta de anticorpos bactericidas estamos medindo anticorpos não somente contra a cápsula, mas também de outras especificidades, como por exemplo, contra proteínas da membrana externa (OMPs). Estes anticorpos podem ser induzidos pelo estado de portador ou por reatividade cruzada com outras bactérias do mesmo gênero ou não (MORLA; GUIBOURDENCHE; RIOU, 1992). Claramente, o efeito da vacina é visto na resposta de anticorpos após cada dose e esta resposta é anti-PS-C. Mas, algumas diferenças nas sensibilidades das duas cepas aos anticorpos líticos poderiam indicar diferenças na especificidade de anticorpos contra outros antígenos de superfície.

Estudos adicionais relacionados às subclasses de IgG, avidéz de anticorpos entre outros também são desejáveis para maior compreensão da imunogenicidade desta vacina em pacientes HIV+, mas não foram objetos deste estudo. Porém, este trabalho demonstrou que uma dose da vacina foi capaz de induzir memória imunológica nos pacientes imunodeprimidos. A segunda dose é essencial para a soroconversão da maioria dos pacientes. Resta-nos investigar o melhor período para aplicação da segunda dose, de forma que pudéssemos ter um percentual ainda maior de respondedores neste grupo de pacientes.

CONCLUSÕES

- Foram necessárias duas doses da vacina MCC em crianças e adolescentes infectados pelo HIV para soroconversão da maioria dos pacientes.
- Houve redução da memória sorológica um ano após a primeira dose da vacina, sendo mais expressiva para a cepa N79/96.
- Ao comparar a mediana dos anticorpos bactericidas entre as cepas N79/96 e a N753/00 em cada visita, foram observadas diferenças significantes nas amostras pré-vacinais e um ano após a primeira dose. Embora com particularidades, a resposta de anticorpos bactericidas às 2 cepas de MenC foi similar após a primeira e segunda dose da vacina.
- Observou-se queda acentuada da concentração de IgG um ano após a segunda dose, atingindo níveis inferiores àqueles observados antes da primeira vacinação.
- Houve correlação significativa entre IgG anti-PS-C e títulos de SBA após a primeira dose da vacina apenas para a cepa N79/96, sugerindo a influencia do radical OAc.
- Para ambas as cepas, houve correlação estatisticamente significante entre a soroconversão avaliada pelo SBA e pelo ELISA após a dose reforço, sugerindo maior diversidade de anticorpos após a segunda dose da vacina.
- Há necessidade de se definir qual o melhor esquema de vacinação neste grupo de pacientes de forma que se obtenha maior benefício com a aplicação da segunda dose da vacina.

REFERÊNCIAS

- ABZUG, M. J. 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. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 25, n. 10, p. 920–929, 2006.
- AIDS, B. M. DA SAÚDE. S. DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. P. NACIONAL DE DST E. **Guia de tratamento clínico da infecção pelo hiv em pediatria**. 3. ed. Brasília: 2007. p. 168
- ANDRADE, C. F. DE et al. Fatal meningococcal meningitis in a HIV-infected patient caused by serogroup C Neisseria meningitidis belonging to the non-hypervirulent clonal complex ST-60 (cc60). **The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases**, v. 15, p. 178–180, 2011.
- ANDREWS, N.; BORROW, R.; MILLER, E. Validation of serological correlate of protection for meningococcal C conjugate vaccine by using efficacy estimates from postlicensure surveillance in England. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**, v. 10, n. 5, p. 780–786, 2003.
- ARAKERE, G.; FRASCH, C. E. Specificity of antibodies to O-acetyl-positive and O-acetyl-negative group C meningococcal polysaccharides in sera from vaccinees and carriers. **Infection and Immunity**, v. 59, p. 4349–4356, 1991.
- BALMER, P.; BORROW, R.; MILLER, E. Impact of meningococcal C conjugate vaccine in the UK. **Journal of Medical Microbiology**, v. 51, p. 717–722, 2002.
- BERTOLINI, D. V. et al. Immunogenicity of a meningococcal serogroup C conjugate vaccine in HIV-infected children, adolescents, and young adults. **Vaccine**, v. 30, n. 37, p. 5482–5486, 2012.
- BORROW, R. et al. Serological basis for use of meningococcal serogroup C conjugate vaccines in the United Kingdom: Reevaluation of correlates of protection. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 3, p. 1568–1573, 2001.
- BORROW, R. et al. Immunogenicity of, and immunologic memory to, a reduced primary schedule of meningococcal C-tetanus toxoid conjugate vaccine in infants in the United Kingdom. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 10, p. 5549–5555, 2003.
- BORROW, R. et al. **Effectiveness of meningococcal serogroup C vaccine programmes** *Vaccine*, 2013.
- BORROW, R.; BALMER, P.; MILLER, E. Meningococcal surrogates of protection - Serum bactericidal antibody activity. **Vaccine**, v. 23, p. 2222–2227, 2005.
- BRASIL, M. DA S. **Guia de Vigilância Epidemiológica**, 2009.

- BRASIL, M. DA S. **Aids no Brasil**. 2012. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/aids-no-brasil>>. Acesso em: 20 fev. 2015.
- BRASIL, M. DA S. **A ONU e a resposta à aids no Brasil**. Geneva: 2013, 2ª ed, 168p.
- BRICKS, L. F. Doenças meningocócicas – morbidade e epidemiologia nos últimos 20 anos : revisão. **Pediatria (São Paulo)**, v. 24, p. 122–31, 2002.
- BUSHMAN, F. D.; FUJIWARA, T.; CRAIGIE, R. Retroviral DNA integration directed by HIV integration protein in vitro. **Science (New York, N.Y.)**, v. 249, p. 1555–1558, 1990.
- CDC. Prevention and Control of Meningococcal Disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)**. Atlanta: Office of Surveillance, Epidemiology, and Laboratory Services, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2013. v. 62,p. 32
- COHEN, C. et al. Increased incidence of meningococcal disease in HIV-infected individuals associated with higher case-fatality ratios in South Africa. **AIDS (London, England)**, v. 24, n. March, p. 1351–1360, 2010.
- COULDWELL, D. L. **Invasive meningococcal disease and HIV coinfection.Communicable diseases intelligence**, 2001.
- FROTA, A.C. et al. Immunogenicity and Safety of Meningococcal C Conjugate Vaccine in Children and Adolescents Infected and Uninfected with Human Immunodeficiency Virus from Rio de Janeiro. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, 2014.
- DE MILITO, A. et al. Mechanisms of hypergammaglobulinemia and impaired antigen-specific humoral immunity in HIV-1 infection. **Blood**, v. 103, n. 6, p. 2180–2186, 2004.
- DICKINSON, F. O.; PÉREZ, A. E.; CUEVAS, I. E. Meningococcal disease serogroup C. **Risk Management and Healthcare Policy**, v. 5, p. 1–15, 2012.
- DICKOVER, R. E. et al. Rapid increases in load of human immunodeficiency virus correlate with early disease progression and loss of CD4 cells in vertically infected infants. **The Journal of infectious diseases**, v. 170, p. 1279–1284, 1994.
- FROTA, A. C. C. et al. Immunogenicity and Safety of Meningococcal C Conjugate Vaccine in Children and Adolescents Infected and Uninfected with Human Immunodeficiency Virus in Rio de Janeiro, Brazil. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, p. 1, 2014.
- FUSCO, P. C. et al. Protective meningococcal capsular polysaccharide epitopes and the role of O acetylation. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 14, n. 5, p. 577–584, 2007.
- GHEESLING, L. L. et al. Multicenter comparison of Neisseria meningitidis serogroup C anti-capsular polysaccharide antibody levels measured by a standardized enzyme-

linked immunosorbent assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 6, p. 1475–1482, 1994.

GIORGI, J. V et al. Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage. **The Journal of infectious diseases**, v. 179, p. 859–870, 1999a.

GIORGI, J. V et al. Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage. **The Journal of infectious diseases**, v. 179, p. 859–870, 1999b.

GOLDSCHNEIDER, B. Y. I.; GOTSCHLICH, E. C.; ARTENSTEIN, M. S. HUMAN IMMUNITY TO THE MENINGOCOCCUS Serum from most young adults contains antibodies to pathogenic strains of Immunity in the Adult : The Carrier State as an Immunizing Process . --Serum. n. 2191, 1969a.

GOLDSCHNEIDER, I.; GOTSCHLICH, E.; ARTENSTEIN, M. HUMAN IMMUNITY TO THE MENINGOCOCCUS I . THE ROLE OF HUMORAL ANTIBODIES BY IRVING GOLDSCHNEIDER , M . D . , EMIL C . GOTSCHLICH , M . D . , AND MALCOLM S . ARTENSTEIN , M . D . (From The Department of Bacteriology , Walter Reed Army Institute of Research , n. 19, p. 1307–1326, 1969b.

GORLA, M. C. O. et al. Phenotypic and molecular characterization of serogroup C *Neisseria meningitidis* associated with an outbreak in Bahia, Brazil. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 30, n. 2, p. 56–59, 2012.

GOUDSMIT, J. et al. Expression of human immunodeficiency virus antigen (HIV-Ag) in serum and cerebrospinal fluid during acute and chronic infection. **Lancet**, v. 2, p. 177–180, 1986.

KAAIJK, P. et al. Is a single dose of meningococcal serogroup C conjugate vaccine sufficient for protection? experience from the Netherlands. **BMC Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 35, 2012.

KHATAMI, A. et al. Maintenance of immune response throughout childhood following serogroup C meningococcal conjugate vaccination in early childhood. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 12, p. 2038–2042, 2011.

KLATZMANN, D. et al. Selective tropism of lymphadenopathy associated virus (LAV) for helper-inducer T lymphocytes. **Science (New York, N.Y.)**, v. 225, p. 59–63, 1984.

KROON, F. P. et al. Restored humoral immune response to influenza vaccination in HIV-infected adults treated with highly active antiretroviral therapy. **AIDS (London, England)**, v. 12, p. F217–F223, 1998.

LANGE, C. G. et al. Nadir CD4+ T-cell count and numbers of CD28+ CD4+ T-cells predict functional responses to immunizations in chronic HIV-1 infection. **AIDS (London, England)**, v. 17, p. 2015–2023, 2003.

- LEPOW ML, PERKINS BA, HUGHES PA, P. J. Meningococcal vaccines. In: **Vaccines**. 3^a ed ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p. 711–27.
- LEWIS, L. A.; RAM, S. Meningococcal disease and the complement system. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 98–126, 2014.
- LUJAN-ZILBERMANN, J. et al. Immunogenicity and safety of 1 vs 2 doses of quadrivalent meningococcal conjugate vaccine in youth infected with human immunodeficiency virus. **Journal of Pediatrics**, v. 161, n. 4, p. 676–681, 2012.
- MADHI, S. A. et al. Immunogenicity and effectiveness of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in HIV infected and uninfected African children. **Vaccine**, v. 23, p. 5517–5525, 2005.
- MAIDEN, M. C. J.; STUART, J. M. Carriage of serogroup C meningococci 1 year after meningococcal C conjugate polysaccharide vaccination. **Lancet**, v. 359, p. 1829–1830, 2002.
- MASLANKA, S. E. et al. Standardization and a multilaboratory comparison of Neisseria meningitidis serogroup A and C serum bactericidal assays. The Multilaboratory Study Group. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**, v. 4, p. 156–167, 1997.
- MICHON, F. et al. Structure activity studies on group C meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccines: effect of O-acetylation on the nature of the protective epitope. **Developments in biologicals**, v. 103, p. 151–160, 2000.
- MILAGRES, L. G. et al. CD4+ T-cell activation impairs serogroup C Neisseria meningitis vaccine response in HIV-infected children. **AIDS (London, England)**, v. 27, n. May, p. 2697–705, 2013.
- MILLER, E.; SALISBURY, D.; RAMSAY, M. Planning, registration, and implementation of an immunisation campaign against meningococcal serogroup C disease in the UK: A success story. **Vaccine**, v. 20, 2001.
- MILLER, L. et al. Elevated risk for invasive Meningococcal Disease among persons with HIV. **Annals of Internal Medicine**, v. 160, p. 30–37, 2014.
- MOIR, S.; CHUN, T.-W.; FAUCI, A. S. Pathogenic mechanisms of HIV disease. **Annual review of pathology**, v. 6, p. 223–248, 2011.
- MORLA, N.; GUIBOURDENCHE, M.; RIOU, J. Y. Neisseria spp. and AIDS. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 9, p. 2290–2294, 1992.
- MOSS, W. J.; CLEMENTS, C. J.; HALSEY, N. A. Immunization of children at risk of infection with human immunodeficiency virus. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 81, n. 00, p. 61–70, 2003.

OBARO, S. K.; PUGATCH, D.; LUZURIAGA, K. Immunogenicity and efficacy of childhood vaccines in HIV-1-infected children. **Lancet Infectious Diseases**, v. 4, p. 510–518, 2004.

OLIVEIRA, A. M. F. . et al. FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Neisseria* spp. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama**, v. 8, n. 1, p. 39–44, 2004.

ORTIGÃO, M. B. Aids em crianças: considerações sobre a transmissão vertical. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, n. 1, p. 142–148, 1995.

PACHECO, A. G. et al. Increase in non-AIDS related conditions as causes of death among HIV-infected individuals in the HAART era in Brazil. **PLoS ONE**, v. 3, n. 1, 2008.

PACHECO, A. G. et al. Temporal changes in causes of death among HIV-infected patients in the HAART era in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 51, n. 5, p. 624–630, 2009.

PATEL, M. et al. Persistence of serogroup C antibody responses following quadrivalent meningococcal conjugate vaccination in United States military personnel. **Vaccine**, v. 32, n. 30, p. 3805–3809, 2014.

PELTOLA, H. et al. Evaluation of two tetravalent (ACYW135) meningococcal vaccines in infants and small children: a clinical study comparing immunogenicity of O-acetyl-negative and O-acetyl-positive group C polysaccharides. **Pediatrics**, v. 76, p. 91–96, 1985.

PERRETT, K. P. et al. Antibody persistence after serogroup C meningococcal conjugate immunization of United Kingdom primary-school children in 1999-2000 and response to a booster: a phase 4 clinical trial. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 50, n. 12, p. 1601–1610, 2010.

POELLABAUER, E. M. et al. Single priming dose of meningococcal group C conjugate vaccine (NeisVac-C??) in infants. **Vaccine**, v. 31, n. 35, p. 3611–3616, 2013.

PÖLLABAUER, E. M.; PETERMANN, R.; EHRLICH, H. J. Group C meningococcal polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine: a meta-analysis of immunogenicity, safety and posology. **Human vaccines**, v. 1, n. August, p. 131–139, 2005.

RACHID M, S. M. Manifestações clínicas. In: RACHID M, S. M. (Ed.). . **Manual de HIV/AIDS**. 8ª. ed. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2005. p. 7–12.

RAMSAY, M. E. et al. Efficacy of meningococcal serogroup C conjugate vaccine in teenagers and toddlers in England. **Lancet**, v. 357, p. 195–196, 2001.

RAMSAY, M. E. et al. Herd immunity from meningococcal serogroup C conjugate vaccination in England: database analysis. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 326, p. 365–366, 2003.

RICHMOND, P. et al. Safety and immunogenicity of a new *Neisseria meningitidis* serogroup C-tetanus toxoid conjugate vaccine in healthy adults. **Vaccine**, v. 18, p. 641–646, 1999.

RICHMOND, P. et al. Evaluation of de-O-acetylated meningococcal C polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine in infancy: Reactogenicity, immunogenicity, immunologic priming, and bactericidal activity against O-acetylated and de-O-acetylated serogroup C strains. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 4, p. 2378–2382, 2001.

ROUPHAEL, N. G.; STEPHENS, D. S. *Neisseria meningitidis*: Biology, microbiology, and epidemiology. **Methods in Molecular Biology**, v. 799, p. 1–20, 2012.

RUBINSTEIN, L. J.; STEIN, K. E. Murine immune response to the *Neisseria meningitidis* group C capsular polysaccharide. II. Specificity. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 141, p. 4357–4362, 1988.

SÁFADI, M. A. P. et al. The current situation of meningococcal disease in Latin America and recommendations for a new case definition from the Global Meningococcal Initiative. **Expert review of vaccines**, v. 12, p. 903–15, 2013.

SÁFADI, M. A. P.; BARROS, A. P. Meningococcal conjugate vaccines: efficacy and new combinations. **Jornal de pediatria**, v. 82, p. S35–S44, 2006.

SÁFADI, M. A. P.; BEREZIN, E. N.; OSELKA, G. W. A critical appraisal of the recommendations for the use of meningococcal conjugate vaccines. **Jornal de Pediatria**, v. 88, n. 3, p. 195–202, 2012.

SÁFADI, M. A. P.; CINTRA, O. A. L. Epidemiology of meningococcal disease in Latin America: current situation and opportunities for prevention. **Neurological research**, v. 32, p. 263–271, 2010.

SAKOU, I. I. et al. Investigation of serum bactericidal activity in childhood and adolescence 3-6 years after vaccination with a single dose of serogroup C meningococcal conjugate vaccine. **Vaccine**, v. 27, p. 4408–4411, 2009.

SCHULTZ, C. et al. Attenuation of monocyte proinflammatory cytokine responses to *Neisseria meningitidis* in children by erythropoietin. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 154, p. 187–191, 2008.

SIBERRY, G. K. et al. Phase I/II, open-label trial of safety and immunogenicity of meningococcal (groups A, C, Y, and W-135) polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccine in human immunodeficiency virus-infected adolescents. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 29, p. 391–396, 2010.

SIBERRY, G. K. et al. Safety and Immunogenicity of Quadrivalent Meningococcal Conjugate Vaccine in 2- to 10-year-old Human Immunodeficiency Virus-infected Children. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 31, n. 1, p. 47–52, 2012.

- SOUTHERN, J. et al. Effects of prior polysaccharide vaccination on magnitude, duration, and quality of immune responses to and safety profile of a meningococcal serogroup C tetanus toxoid conjugate vaccination in adults. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**, v. 11, n. 6, p. 1100–1104, 2004.
- SPOULOU, V. et al. Natural and vaccine-induced immunity to *Neisseria meningitidis* serogroup C in asplenic patients with beta-thalassemia. **Vaccine**, v. 29, p. 4435–4438, 2011.
- STEPHENS, D. S. et al. Sporadic meningococcal disease in adults: results of a 5-year population-based study. **Annals of internal medicine**, v. 123, p. 937–940, 1995.
- STEPHENS, D. S. Conquering the meningococcus. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, p. 3–14, 2007.
- STEPHENS, D. S.; GREENWOOD, B.; BRANDTZAEG, P. Epidemic meningitis, meningococcaemia, and *Neisseria meningitidis*. **Lancet**, v. 369, p. 2196–2210, 2007.
- UNAIDS, J. U. N. P. ON H. **CONTAGEM REGRESSIVA ATÉ zero**. Geneva: 2014, 48p.
- UNAIDS, J. U. N. P. ON H. **FAST-TRACK: ending the AIDS epidemic by 2030**. Geneva: 2014, 40p.
- WILHELM B., J.; VILLENA M., R. Historia Y Epidemiología Del Meningococo. **Revista Chilena de Pediatría**, v. 83, n. 6, p. 533–539, 2012.
- WING, J. B. et al. Correlation of group C meningococcal conjugate vaccine response with B- and T-Lymphocyte activity. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. 1–6, 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. **Weekly Epidemiological Record**, n. 47, p. 521–540, 2011.
- ZACCARELLI-FILHO, C. A. et al. HIV-1-infected children on HAART: Immunologic features of three different levels of viral suppression. **Cytometry Part B - Clinical Cytometry**, v. 72, p. 14–21, 2007.
- ZLAMY, M. et al. Immunogenicity of conjugate *Meningococcus C* vaccine in pediatric solid organ transplant recipients. **Vaccine**, v. 29, p. 6163–6166, 2011.
- ZONNEVELD-HUIJSSOON, E. et al. Safety and efficacy of meningococcal C vaccination in juvenile idiopathic arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 56, p. 639–646, 2007.

APÊNDICE – Critérios de inclusão e exclusão

I- Critérios de Inclusão:

- Ter idade igual ou superior a 2 anos e inferior a 18 anos, 11 meses e 29 dias por ocasião da visita de entrada;
- Preencher critério de infecção pelo HIV de acordo com o Ministério da Saúde do Brasil;
- Não estar planejando transferir residência do estado do Rio de Janeiro nos próximos 18 meses e concordar em ser contatado após a imunização;
- Concordar em vir às visitas planejadas;
- Apresentar contagem de linfócitos CD4+ superior ou igual a 350 células/mm³ e/ou percentagem de linfócitos CD4+ superior ou igual a 15% na entrada do estudo;
- Em pacientes do sexo feminino com Tanner ≥ 3 e/ história de ter apresentado menarca, a inclusão só se dará se apresentar dosagem de hormônio gonadotrópico coriônico urinário (beta-HCG) negativo;
- O responsável pelo indivíduo (de idade inferior a 18 anos) ou o próprio (idade superior a 18 anos) deve entender e concordar com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Se o paciente for maior de 8 anos, e souber seu diagnóstico, e de acordo com o julgamento da enfermeira do estudo, for capaz de entender, este assentirá no estudo, assinando o termo de assentimento.
- Para a revacinação dos indivíduos desse grupo, somente será aplicada vacina naqueles que apresentarem contagem de linfócitos CD4+ superior ou igual a 350 células/mm³ e/ou percentagem de linfócitos CD4+ superior ou igual a 15% por ocasião da revacinação.

II- Critérios de exclusão:

- Paciente ter recebido vacina anti-meningocócica conjugada;
- Apresentar sinais ou sintomas de imunossupressão severa (classificação 4 da OMS) por ocasião da visita de entrada no estudo;
- Apresentar qualquer outra doença imunossupressiva que não a infecção pelo HIV;
- Fazer uso ou ter a intenção do uso de drogas imunossupressoras. Para glicocorticoides considera-se dose imunossupressora a dose em prednisona de 1 mg/Kg/dia por período superior a uma semana;
- Ter feito uso de antibióticos até 3 semanas antes da imunização ou imunoglobulinas nos últimos 6 meses pré-imunização;

- Ter recebido outras vacinas dentro de quatro semanas antes da entrada do estudo ou planejar receber ou planejar receber vacinas dentro de duas semanas após o arrolamento;
- Ter incapacidade de entender e cooperar com os requerimentos do protocolo;
- O indivíduo ou responsável, no caso de menores de 18 anos ou incapacitados legalmente, apresentar qualquer alteração psiquiátrica, intoxicação por álcool ou uso de drogas ilícitas por ocasião do arrolamento;
- Ter história de alergia a vacinas;
- Ter história de sangramento, doenças hemorrágicas ou reação adversa a qualquer componente da vacina;
- Estar grávida.
- Para fins de revacinação dos indivíduos desse grupo, deverão ser reavaliados todos os critérios de exclusão descritos acima.

ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido para os pacientes HIV positivosTERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA SER VOLUNTÁRIO
DE UM PROJETO DE PESQUISA

TÍTULO: Imunogenicidade da Vacina Conjugada contra Neisseria meningitidis C em Crianças Infectadas pelo HIV.

INVESTIGADORA: Cristina Barroso Hofer, MD, MSc, PhD

Professora Adjunta de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Universidade Federal do Rio de Janeiro

DESCRIÇÃO DO PROJETO:

Nós estamos conduzindo um projeto de pesquisa em crianças maiores de 2 anos acompanhados nos ambulatórios de DIP-IMUNO do IPPMG. Este projeto quer avaliar se seu organismo respondeu à vacina para meningite (Vacina conjugada para meningococo tipo C), prescrita pelo seu médico.

Os objetivos desta pesquisa são:

Avaliar a resposta imune da vacina conjugada para meningococo tipo C a curto e longo prazo

Avaliar se existe fatores relacionados com o estado clínico que favoreçam a resposta imune da vacina conjugada para meningococo tipo C.

Você ou seu filho estão convidados a participar deste estudo, por fazerem parte dos pacientes em acompanhamento no IPPMG. Aceitar este convite significa que você (o paciente) e todos os outros participantes da pesquisa serão entrevistados, dados clínicos do prontuário serão avaliados e coletaremos 3 amostras de até 5 mL de sangue do seu filho: uma vez no dia da vacinação, outra 1-2 meses depois e outra 1-11/2 anos após a vacinação.

Também faremos dois contatos telefônicos para avaliar qualquer reação da vacina. Esses contatos serão no 3º. e 7º. dias após a vacina.

A entrevista e a coleta levarão aproximadamente 30 minutos.

RISCOS E BENEFÍCIOS:

Não existem riscos associados a responder o questionário. O único risco quanto a coleta do sangue é de hematoma (mancha arrocheada no braço após a coleta). Este risco será minimizado pois utilizaremos coletadores experientes.

O seu médico será informado sobre os resultados desta pesquisa. Ele poderá usar estes resultados para avaliar quando é o melhor momento para a prescrição da vacina conjugada para meningococo tipo C.

CUSTOS E PAGAMENTOS:

Ao participar deste estudo, você receberá, se desejar, um atestado médico para justificar as horas de trabalho gastas na entrevista.

A cada visita do estudo, o participante receberá uma ajuda para alimentação e transporte.

A vacina é fornecida pelo Programa Nacional de Imunizações do Ministério da Saúde.

A responsabilidade pela prescrição da vacina é de seu médico. Portanto, os pesquisadores não se responsabilizam por quaisquer efeitos colaterais que possam ser atribuídos à vacinação.

CONFIDENCIALIDADE:

Você não é obrigado a responder qualquer pergunta. Todas as informações deste estudo vão ser mantidas em segredo sob a responsabilidade dos pesquisadores e somente eles terão acesso a essas informações. Você não será identificado pelo nome em qualquer publicação dos resultados desta pesquisa. Qualquer informação que diga respeito a você será confidencial.

ALTERNATIVAS A PARTICIPAÇÃO E DIREITO DE SAIR DO ESTUDO:

Sua participação nesta pesquisa é completamente voluntária. Você não é obrigado a participar desta pesquisa. Caso decida participar e depois mude de idéia poderá deixar o estudo a qualquer momento. Seu direito de atendimento neste serviço não se modificará caso você decida participar ou não da pesquisa ou até mesmo deixar de participar após ter inicialmente consentido.

CONSENTIMENTO INFORMADO VOLUNTÁRIO:

Este documento me foi explicado e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. Eu sei que posso fazer qualquer pergunta sobre qualquer aspecto desta pesquisa durante

o curso do estudo e que estas perguntas serão respondidas pelos pesquisadores listados na primeira página deste documento.

Qualquer pergunta que eu tenha sobre meus direitos como participante de projetos de pesquisa será respondida pelo Comitê de Ética do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira, telefone: (021) 25626146, ou pela pesquisadora responsável, Dra. Cristina Barroso Hofer através do telefone: (21) 9206-3853.

Assinando este documento, eu concordo em participar deste estudo. Uma cópia deste termo de consentimento será entregue a mim.

Nome legível do participante:

Assinatura do participante voluntário:

Nome do representante legal:

Assinatura do representante legal:

Nome da testemunha:

Assinatura da testemunha:

Nome pesquisador:

Assinatura do pesquisador

Rio de Janeiro ____ de ____ de 201__.

Rio de Janeiro ____ de ____ de 200__.

ANEXO B – Documento de aprovação do estudo pelo CEP-HUPE-UERJ

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Rio de Janeiro, 04 de Fevereiro de 2011

Do: Comitê de Ética em Pesquisa

Prof.: Wille Oigman

Para: Coord. Profa. Lucimar Gonçalves Milagres / Imunologia

Registro CEP/HUPE: 2743/2010 (este número deverá ser citado nas correspondências referentes ao projeto)

CAAE: 0187.0.228.000-10

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto, "DESENVOLVIMENTO DE MEMÓRIA IMUNOLÓGICA APÓS VACINAÇÃO OU INFECÇÃO POR *NEISSERIA MENINGIDITIS*" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. Sa., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Prof. Wille Oigman

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
HUPE/UERJ