

# CARACTERIZAÇÃO IMUNOLÓGICA E EPIDEMIOLÓGICA DOS NÃO- -RESPONDEDORES/HIPO-RESPONDEDORES À VACINA DA HEPATITE B\*

I. RAMOS, J. OLIVEIRA, V. ALVES, R. CÔRTE-REAL, M. SANTOS-ROSA, A. MELIÇO SILVESTRE

Serviço de Doenças Infecciosas. Hospitais da Universidade de Coimbra. Coimbra.

Centro de Imunologia. Faculdade de Medicina de Coimbra. Coimbra.

## RESUMO

A descoberta de uma vacina eficaz na prevenção da hepatite B veio permitir uma redução importante da morbidade e mortalidade atribuíveis a esta doença infecciosa. No entanto, 2 a 10% dos adultos saudáveis não respondem à vacinação com produção de anticorpo anti-HBs em títulos considerados protectores (admitindo-se como *protectores*, doseamentos do ac. anti-HBs > 10 UI / L). Reconhecendo este facto, os autores procuraram estudar factores epidemiológicos (sexo, idade, obesidade, hábitos tabágicos e alcoólicos, antecedentes patológicos) e imunológicos (hemograma, doseamento de imunoglobulinas séricas e subclasses de IgG, populações e sub-populações linfocitárias) de um grupo de vinte técnicos de Saúde com fraca resposta - ac. anti-HBs < 50 UI / L - a uma vacina de recombinação genética (Engerix B®). Os resultados obtidos foram comparados com os de um grupo idêntico de respondedores (ac. anti-HBs > 100 UI / L) retirado da mesma população. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no que diz respeito aos dados epidemiológicos pesquisados, ao hemograma com contagem diferencial de neutrófilos e linfócitos, bem como ao doseamento de IgG, IgA, IgM, IgG1, IgG2, IgG3. Os não-respondedores / hipo-respondedores apresentaram valores de IgG4 ( $\bar{X} = 54,53 \pm 59,8$  mg/dl) significativamente ( $p = 0,038$ ) superior aos respondedores ( $\bar{X} = 33,76 \pm 31,3$  mg/dl). No respeitante às populações e sub-populações linfocitárias, apenas foram encontradas diferenças com significado estatístico ( $p < 0,05$ ) na quantificação dos linfócitos T *duplamente negativos* (D.N.) cujo valor médio foi mais elevado nos respondedores ( $\bar{X} = 6,5 \pm 4,1$  % *versus*  $\bar{X} = 4,6 \pm 2,3$  %). Conclusões: Apesar da eficácia reconhecida das novas vacinas de recombinação genética, há indivíduos aparentemente saudáveis incapazes de uma resposta considerada protectora contra a infecção pelo Vírus da Hepatite B (VHB). O reduzido tamanho das amostras em causa não permitiu valorizar as diferenças encontradas na quantificação de IgG4 e dos linfócitos T D.N., sendo desejáveis estudos envolvendo maior número de indivíduos. Parece-nos justificar-se um investimento na investigação das eventuais causas das resposta vacinais *não protectoras* e nas estratégias futuras de imunização dos não / hipo-respondedores. O elevado risco de contágio por exposição aos fluidos orgânicos dos indivíduos infectados pelo VHB, torna prioritária a imunização adequada dos profissionais de Saúde.

\* Trabalho subsidiado pela Comissão de Fomento da Investigação em Cuidados de Saúde do Ministério da Saúde

## SUMMARY

### Epidemiological and Immunological Characterization of Non-responders/Hyporesponders to Hepatitis B Vaccine

An important reduction in morbidity and mortality due to hepatitis B was achieved with the discovery of an effective vaccine. However, 2 to 10% of healthy adults do not respond to vacci-

nation with the production of protective levels of antibody anti-HBs (assumed as *protective*, concentrations of ab. anti-HBs >10 UI / L). Therefore, the aim of the present work was to study epidemiological (sex, age, obesity, alcoholic and smoking habits, previous diseases) and immunological factors (white cell count, immunoglobulins and sub-classes of IgG, lymphocytic populations and sub-populations) in a group of 20 healthcare workers with a low response (anti-HBs < 50 UI / L) to a genetically-engineered vaccine (Engerix B). The results were compared to the ones found in an identical sample of responders (anti-HBs > 100 UI / L) from the same population. No statistically significant differences regarding the epidemiological data, differential white cell counts and immunoglobulin quantification (IgG, IgA, IgM, IgG1, IgG2, IgG3) were detected. The mean value of IgG4 ( $\bar{X} = 54.53 \pm 59.8$  mg/dl) in *non / hyporesponders* was significantly higher ( $p = 0.038$ ) when compared to the same result in responders ( $\bar{X} = 33.76 \pm 31.30$  mg/dl). A statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) in the quantification of *double negative* lymphocytic T sub-populations was also found, the mean value being higher in the responders ( $\bar{X} = 6.5 \pm 4.1\%$  versus  $4.6 \pm 2.3\%$ ). Conclusions: The effectiveness of recombinant hepatitis B vaccines is well known. However, a number of apparently healthy people are unable to achieve protective titres of anti-HBs after vaccination. As our study groups did not have a considerable number of cases, we can not establish definitive conclusions based on differences found in the quantification of IgG4 and *double negative* lymphocytic T sub-populations. It seems to us that an investment in future research into the eventual causes of nonprotective response and into new strategies of immunization of non / hyporesponders are appropriate. In the meantime, the occupational daily risk of exposure to infected body fluids makes adequate hepatitis B immunization of healthcare workers a priority.

## INTRODUÇÃO

Neste final do Século XX, a hepatite B é uma das mais importantes doenças infecciosas que atingem a Humanidade. Esta importância decorre não só do elevado número de indivíduos atingidos em todo o Mundo (cerca de dois bilhões), mas também das complicações potencialmente letais das suas formas aguda (hepatite fulminante) e crónica (insuficiência hepática, carcinoma hepatocelular e cirrose hepática)<sup>1</sup>. Os portadores crónicos do VHB, para além da probabilidade considerável de evoluírem para as complicações atrás referidas, representam o grande reservatório do vírus na Natureza.

Na década de oitenta, foram aprovadas vacinas (vac.) de reconhecida eficácia na prevenção desta infecção vírica, a primeira das quais obtida por purificação do antigénio de superfície do vírus (Ag HBs) a partir de soros de portadores crónicos (vac. derivada do plasma). Anos mais tarde e por desenvolvimento de técnicas de recombinação genética, conseguiu-se produzir o referido antigénio utilizando um fungo como vector de expressão antigénica - o *Saccharomyces cerevisiae*. Contrariamente à primeira, esta segunda técnica possibilitava a obtenção de quantidades praticamente ilimitadas de Ag HBs com encargos económicos menos avultados. Só então foi possível viabilizar projectos de vacinação *em massa* de populações em risco em diferentes áreas geográficas.

Os mais de dez anos de utilização das vacinas de recombinação do DNA, permitem-nos hoje reconhecer-lhes elevadas taxas de eficácia (80-90%) e segurança, estando ainda por definir claramente a duração da protecção por elas conferida, mas que se pressupõe seja longa<sup>2</sup>. Para além da esperança na erradicação futura da doença, estas vacinas são inovadoras na medida em que possibilitam também a prevenção de uma neoplasia - o carcinoma hepatocelular<sup>3</sup>.

No entanto, cerca de 2 a 10% dos adultos sem défices imunes clinicamente aparentes, são incapazes de uma resposta imunológica considerada protectora, ou seja, após vacinação, o título do anticorpo anti-HBs (ac. anti-HBs) é < 10 UI / L; outros ainda respondem com títulos baixos do referido anticorpo (< 100 UI / L), assistindo-se nestes casos a uma descida rápida dessa titulação para valores considerados ineficazes na prevenção da infecção. Os primeiros são designados por *não-respondedores* e os últimos por *hipo-respondedores*<sup>2,4</sup>.

Os profissionais de Saúde e tendo em consideração o risco diário de exposição ao sangue e outros fluidos orgânicos de doentes infectados, apareceram desde cedo como um dos alvos prioritários das campanhas de vacinação a instituir em diferentes países. As especificidades próprias do grupo, tornam premente a manutenção de elevadas taxas de protecção contra a hepatite B, que é considerada, neste âmbito, uma doença profissional.

Conscientes destes problemas, procurámos caracterizar do ponto de vista epidemiológico e também imunológico, uma população de não-respondedores (ac.anti-HBs < 10 UI/L) e hipo-respondedores (ac.anti-HBs < 50 UI/L) a uma vacina de recombinação genética, num universo constituído pelos profissionais de saúde dos HUC que aderiram à campanha em prol da imunização para a Hepatite B, em curso naquela Instituição desde finais dos anos oitenta.

## OBJECTIVO

Procurar avaliar a influência de factores epidemiológicos (sexo, idade, obesidade, tabagismo, alcoolismo, patologias associadas) e imunológicos (contagem de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos circulantes, doseamento de imunoglobulinas séricas e das subclasses de IgG e ainda o estudo das populações /sub-populações linfocitárias) nas diferenças encontradas na capacidade de resposta imunitária à vacina da hepatite B - Engerix B® (Smithkline) - em dois grupos de funcionários dos HUC.

## MATERIAL E MÉTODOS

No período compreendido entre 1990 - 92, foram vacinados para a hepatite B cerca de 1038 funcionários dos HUC que aderiram à campanha de sensibilização promovida pelo *Serviço de Saúde do Pessoal* do referido Hospital. A imunização foi feita por administração intramuscular, na região deltoideia, de três doses de 20 µg (20 µg / 1 mL) de uma vacina de recombinação genética (Engerix B) respectivamente aos 0, 1 e 6 meses. Dos que efectuaram controlo da imunidade pós vacinal entre os 2 e 6 meses, seleccionaram-se os que responderam com títulos de ac. anti-HBs considerados não protectores (< 10 UI / L) - 27 indivíduos (2,6% dos vacinados) - e os que o fizeram com títulos muito baixos do referido anticorpo (< 50 UI / mL) - 47 indivíduos (4,54%). De forma aleatória, seleccionaram-se 25 destes funcionários (não respondedores e hipo-respondedores) - o *grupo de estudo*. Um segundo grupo de 25 elementos (*grupo controlo*) foi constituído de entre os que tinham respondido à vacina com taxas de ac. anti-HBs > 100 UI / L. A determinação do ac.anti-HBs foi feita por técnica de ELISA (na detecção e titulação). A colaboração no estudo foi voluntária e a todos os seleccionados que acederam a participar foi solicitada a resposta a um sucinto inquérito epidemiológico que incluía dados como: sexo, idade, peso, estatura, hábitos de consumo de tabaco e álcool, antecedentes patológicos pessoais e familiares e ainda o local de trabalho. A partir dos dados referentes ao peso e à estatura, foi calculado o *Índice de Massa Corporal* (IMC) para cada um dos par-

ticipantes a partir da fórmula:  $IMC = P / A^2$ , em que P representa o peso em quilos e A a altura em metros<sup>5</sup>.

Valores de IMC ≥ 25 foram considerados como indicadores de obesidade (Quadro I)<sup>5</sup>.

*Quadro I - Classificação da obesidade conforme o valor do IMC*

Grau	IMC
Normal	≥ 19 > 25
I (Excesso de peso)	≥ 25 < 30
II (Obesidade)	≥ 30 < 40
III (Obesidade mórbida)	≥ 40

A todos os participantes no estudo foram também feitas colheitas de sangue periférico destinadas à determinação de: hemograma, doseamento das imunoglobulinas (Igs) séricas IgG, IgA, IgM e subclasses de IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) e ainda ao estudo das populações / sub-populações linfocitárias (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56, D.N., CD3HLADR, CD3CD25, CD3CD26, CD3CD29, CD3CD45R, CD7CD4, CD7CD8, Pan γ.δ.) quantificadas por método de citometria de fluxo. Tanto o estudo das Igs como o das populações linfocitárias foi efectuado no Centro de Imunologia da Faculdade de Medicina de Coimbra. Os dados representados por valores numéricos foram tratados estatisticamente e de forma comparativa, utilizando o Teste de Levene para a igualdade de variâncias. O nível de significação foi definido como  $p < 0,05$ . Todos os resultados numéricos são apresentados como *média ± desvio-padrão*.

## RESULTADOS

Dos 50 funcionários hospitalares solicitados a colaborar no estudo, acederam a participar 20 do *grupo de estudo* e 21 do *grupo controlo*, os quais incluíam elementos de várias classes profissionais: médicos, enfermeiros, técnicos de laboratório e auxiliares de acção médica. Considerando cada um dos aspectos avaliados, passamos à descrição dos resultados obtidos:

## EPIDEMIOLOGIA

De entre os *não respondedores / hipo-respondedores*, 11 eram do sexo feminino (55%) e 9 do sexo masculino; a média de idades encontrada foi de  $34,15 \pm 8,1$  anos, com um mínimo de 21 e um máximo de 50 anos. Em relação à questão sobre hábitos tabágicos, sete (35%) responderam afirmativamente, com consumos ≥ 10

unidades/maço/ano. Todos negaram consumo excessivo de álcool (considerando como excesso de consumo a ingestão diária e regular de  $\geq 35$  g / dia para o homem e  $\geq 24$  g / dia na mulher); o cálculo do IMC mostrou que 15 (75%) tinham peso normal, 4 (20%) tinham excesso de peso e 1 (5%) apresentava um IMC  $< 19$  (malnutrição). As doenças de foro alérgico foram as únicas registadas na questão sobre antecedentes patológicos, com sete (35%) dos indivíduos a referir passado de atopia (rinite alérgica, asma e/ou eczema atópico).

No grupo controlo a distribuição por sexos foi de 11 (52,4%) mulheres para 10 (47,6%) homens. A média etária encontrada foi de  $34,14 \pm 6,96$  anos, com um mínimo de 20 e um máximo de 45; foram 8 (38,1%) os que referiram consumo de tabaco  $\geq 10$  unidades/maços/ano e nenhum respondeu afirmativamente à questão sobre o consumo excessivo de álcool. Considerando os respectivos IMC, dez (47%) destes indivíduos tinham peso normal, quatro (19,1%) excesso de peso e dois (9,5%) eram obesos; os restantes cinco (23,8%) tinham índices de malnutrição (IMC  $< 19$ ). Também neste grupo as doenças alérgicas foram referidas, com oito (38%) funcionários a afirmarem antecedentes de atopia.

Não encontramos diferenças estatisticamente significativas para os parâmetros epidemiológicos pesquisados, sendo ambos os grupos muito idênticos quanto ao género (masc. ou fem.) dos seus elementos e também quanto às respectivas médias etárias, ao consumo de tabaco e aos antecedentes patológicos. Registámos uma prevalência não desprezível - 35 e 38% respectivamente - das chamadas *doenças de foro alérgico* entre estes profissionais.

## HEMOGRAMA

a) - Não-respondedores / hipo-respondedores (Quadro II)

Quadro II - Valores médios do Leucograma no Grupo de Estudo

Variável	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Leucócitos (Leuc/mm <sup>3</sup> )	6.035	1711	3900	9700
Linfócitos (linf/mm <sup>3</sup> )	2747,75	937,9	1443	4694
Neutrófilos (neut/mm <sup>3</sup> )	2826	1495	1057	5917

b) - Respondedores (Quadro III)

Quadro III - Valores médios do Leucograma no Grupo de Controlo

Variável	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Leucócitos (Leuc/mm <sup>3</sup> )	6.562	1565	3900	9800
Linfócitos (linf/mm <sup>3</sup> )	2285,7	633	1480	3.600
Neutrófilos (neut/mm <sup>3</sup> )	3637	1055	1825	5950

Em relação aos parâmetros hematológicos, as diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas assinalando-se, no entanto, os valores médios mais elevados da contagem de linfócitos para o grupo em estudo relativamente ao grupo controlo. Neste, por sua vez, foi superior a contagem média de neutrófilos.

## Classes e subclasses de Imunoglobulinas (Igs) séricas

a) - Não-respondedores/hipo-respondedores (Quadro IV)

Quadro IV - Igs séricas e subclasses de IgG no Grupo de Estudo

Variável	Média	Desvio Padrão
IgA (mg/dl)	182,742	84,1
IgG (mg/dl)	958,05	186,34
IgM (mg/dl)	117,74	32,92
IgG1 (mg/dl)	557,52	91,73
IgG2 (mg/dl)	358,1	125
IgG3 (mg/dl)	42,1	15,82
IgG4 (mg/dl)	54,53*	59,81

\* p = 0,038

b) - Respondedores (Quadro V)

Quadro V - Igs séricas e subclasses de IgG no Grupo de Estudo

Variável	Média	Desvio Padrão
IgA (mg/dl)	206,67	89,84
IgG (mg/dl)	1031,1	205,31
IgM (mg/dl)	115,38	52,09
IgG1 (mg/dl)	624,57	145,64
IgG2 (mg/dl)	346,24	98,27
IgG3 (mg/dl)	39,90	14,82
IgG4 (mg/dl)	33,75*	31,35

\* p = 0,038

No doseamento das classes de Igs e subclasses de IgG, os dois grupos apresentaram resultados idênticos, com exceção do valor médio de IgG4 que foi significativamente superior (p = 0,038) no grupo de estudo. A concentração de IgG1, mostrou valor médio mais elevado nos respondedores, muito embora a diferença verificada entre as duas amostras carecesse de significado estatístico (p = 0,097).

## Populações e Sub-Populações Linfocitárias (Quadro VI)

A única diferença significativa encontrada nestas determinações dizia respeito à quantificação das subpopulações T duplamente negativas, cujo valor médio foi superior no grupo controlo (respondedores):  $6,52 \pm 4,05$  % contra  $4,60 \pm 2,4$  % (p = 0,021)

## DISCUSSÃO

Permanecem ainda hoje discordâncias e incertezas não

Quadro VI - Populações e Sub-populações linfocitárias

Variável	Respondedores		Não/Hipo-Respondedores	
	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
CD3 (%)	79,92	6,8	78,32	5,2
CD4 (%)	46,44	9,6	43,53	6,2
CD8 (%)	27,2	7,03	30,34	6,91
CD19 (%)	11,27	3,47	11,09	4,66
CD56 (%)	8,55	4,49	10,41	3,90
DN (%)	6,52*	4,05	4,59*	2,36
CD7CD4 (%)	38,74	6,93	34,53	5,83
CD7CD8 (%)	26,46	6,60	28,18	8,40
CD3CD25 (%)	10,54	3,87	7,19	4,21
CD3CD26 (%)	52,63	8,28	48,65	6,87
CD3CD29 (%)	45,74	14,36	49,67	13,84
CD3CD45R (%)	35,54	8,68	29,72	9,31
CD3HLADR (%)	3,01	2,28	3,49	2,27
PANγδ (%)	3,42	2,08	3,26	1,57

\*p = 0,021

só no que diz respeito à valorização do ac. anti-HBs como marcador de imunização e parâmetro de quantificação da resposta imunológica às actuais vacinas de recombinação genética para a hepatite B, mas também quanto à eventual necessidade de reforços vacinais e sua periodicidade. Decerto que estudos envolvendo maiores populações e por períodos de seguimento mais longos, irão permitir responder a algumas das questões que continuam a desafiar os conhecimentos daqueles que têm dedicado parte importante do seu trabalho a esta matéria. Avanços importantes foram feitos, passada já mais de uma década desde a aprovação da utilização humana destas vacinas. Sabe-se assim que os não-respondedores permanecem susceptíveis à infecção pelo VHB<sup>6</sup> e que os casos descritos de infecção em vacinados (traduzidos pelo posterior aparecimento do ac.anti-HBc) aconteceram em não / hipo-respondedores, sendo excepcionais quando o ac. anti-HBs permanece >100 UI / L; estas infecções cursaram caracteristicamente de forma assintomática e apenas pontualmente evoluíram para a cronicidade<sup>6,7</sup>. Alguns factores foram já reconhecidos como podendo afectar negativamente a resposta imunológica à vacina da hepatite B em termos de produção do ac. anti-HBs. Esses condicionantes são, por exemplo:

**a) - Local da injeção** - a região deltoideia (intramuscular) é a recomendada em detrimento da glútea; a administração subcutânea de doses menores e repetidas de vacina foram por vezes utilizadas com resultados não perfeitamente sobreponíveis de autor para autor<sup>8,9</sup>;

**b) - Género** - o sexo masculino parece responder pior, mas também em relação a este parâmetro os resultados são discordantes;

**c) - Idade** - após os 40 anos, diminui significativamente a percentagem daqueles que conseguem níveis

considerados protectores de ac. anti-HBs, o que só vem reforçar o argumento da necessidade de imunização em idades precoces (infância ou adolescência);

**d) - Obesidade** - indivíduos com IMC's elevados respondem pior<sup>10</sup>;

**e) - Imunodepressão** (iatrogénica ou não iatrogénica);

**f) - Tabagismo e Alcoolismo**<sup>11</sup>;

**g) - Insuficiência Renal Crónica (IRC)** - as taxas de resposta descem para 50 a 60%<sup>8,12</sup>;

**h) - Factores Genéticos** - a resposta de anticorpos à vacina, é uma estimulação de células B dependente de células T e estará geneticamente ligada aos antígenos de classe II do Complexo *Major* de Histocompatibilidade<sup>13,14</sup>;

**i) - Acondicionamento Inadequado das Vacinas** - quando submetidas a temperaturas ambientais exageradamente elevadas podem deteriorar-se.

Nos respondedores e cerca de 1 a 2 meses após a terceira dose de vacina, é atingida a titulação máxima do ac. anti-HBs; a partir desta data, ela diminui rapidamente durante cerca de 12 a 24 meses, seguindo-se um decréscimo mais lento e paulatino nos anos seguintes. Este título do ac. pós-vacinal (1 a 2 meses após a terceira dose) é predictivo da sua persistência, podendo ser usado na programação de futuros reforços: quanto maior o seu valor, maior o período de protecção conferida e menor a necessidade de eventuais reforços<sup>4,15,16</sup>.

Para além da produção de anticorpos, a protecção dos organismos vacinados é ainda assegurada por uma memória imunológica que permanecerá por longo tempo após a vacinação (mesmo após o desaparecimento do ac. anti-HBs) e cuja presença é demonstrada pela subida rápida dos títulos do anticorpo em resposta à estimulação através de doses de reforço ou da própria infecção; o longo período de incubação da hepatite B optimiza a probabilidade de uma resposta anamnésica de acs. pós-exposição ao VHB nos indivíduos vacinados, capaz de prevenir uma eventual infecção crónica<sup>6,7</sup>.

Os grupos submetidos ao presente estudo, constituídos por profissionais de Saúde exercendo a sua actividade nos HUC, revelaram-se muito idênticos em relação a dados epidemiológicos como: o sexo (pouco mais de metade pertencendo ao sexo feminino), a idade (a maioria tinha entre 30 e 40 anos), o tabagismo (cerca de 1/3 dos entrevistados reconhecia ter hábitos tabágicos significativos em termos de risco para doenças cardiovasculares e pulmonares), o peso corporal (curiosamente foi entre os respondedores que encontramos maior número de indivíduos com IMC's elevados e também maior percentagem de desnutridos, ou seja, com IMC's <19) e os

antecedentes patológicos. Nenhum dos inquiridos referiu patologia ou eventual medicação imunossupressiva; as doenças alérgicas encontradas em 1/3 dos elementos de ambas as amostras, não justificavam em nenhum deles corticoterapia de manutenção.

Em relação aos resultados obtidos com a quantificação das Igs séricas e subclasses de IgG, o valor médio mais elevado das IgG4 no grupo de estudo ( $\bar{X} = 54,53 \pm \pm 59,81 \text{ mg/dl}$ ) não tem para nós uma justificação muito clara; poderá talvez atribuir-se a uma produção mais intensa de imunoglobulinas não específicas, associada a um défice de produção de anticorpos específicos nos não-respondedores/hipo-respondedores. Para uma correcta valorização da diferença (com significado estatístico) encontrada na quantificação das sub-populações linfocitárias duplamente negativas, teria sido necessário caracterizar de seguida os subtipos de TCR e mais especificamente as  $\beta$ .  $\alpha$ ., uma vez que as pan  $\gamma$ .  $\delta$ . foram avaliadas e apresentavam valores idênticos nos dois grupos em comparação. Essa caracterização não foi feita por não estar contemplada no projecto inicial do trabalho.

Os resultados de alguns estudos mais actuais sobre a resposta imunológica à vacinação, sugerem que as deficiências de resposta poderão ser devidas a uma disfunção mínima da componente celular, sem uma tradução clínica evidente. Esses défices têm sido atribuídos a factores como: depressão da função monocitária, decréscimo da produção de citocinas (ex: IL-2) ou desregulação dos receptores desses mesmos mediadores citoquímicos<sup>17</sup>. Haplótipos particulares do sistema HLA (ex: HLA-B8, SCO1, DR3) estariam igualmente relacionados com pior resposta vacinal<sup>14,18</sup>. Nenhum destes parâmetros foi por nós investigado no presente trabalho.

## CONCLUSÃO

Tratando-se de amostras com tão reduzido número de elementos, não nos foi possível tirar conclusões sobre as diferenças encontradas. No entanto, em relação ao estudo das populações e sub-populações linfocitárias, esboçaram-se algumas diferenças na quantificação de determinados grupos celulares que nos pareceram poder constituir futuras linhas de investigação caso se consigam reunir amostras maiores, mais representativas.

Quando se trata da imunização universal das populações e admitindo-se um elevado nível de imunogenicidade das vacinas de recombinação genéticas actuais (cerca de 90% dos vacinados respondeu favoravelmente), a titulação pós vacinal do ac. anti-Hbs como rotina não é recomendada nem seria prática ou economicamente viável para a maioria dos sistemas de saúde a nível

mundial. No entanto, quando nos cingimos ao caso particular dos grupos populacionais ou profissionais de risco acrescido para a hepatite B (toxicodependentes, homossexuais masculinos, heterossexuais promíscuos, hemodialisados e técnicos de Saúde, entre outros) as linhas de actuação serão necessariamente diferentes<sup>19</sup>.

Os Serviços de Saúde do Pessoal ou os Gabinetes de Medicina do Trabalho dos estabelecimentos hospitalares têm um papel importante na implementação e coordenação de campanhas visando a prevenção primária da hepatite B nos seus funcionários, dado o risco elevado de contágio por exposição a fluidos orgânicos potencialmente infectantes a que diariamente estão sujeitos. Neste âmbito, existem normas de actuação que, embora com pequenas diferenças consoante o País considerado (E.U.A. e Canadá versus países europeus), basicamente procuram a obtenção das mais elevadas taxas de imunização no maior número possível de indivíduos, durante tempo prolongado. Para atingir tais objectivos, as orientações propostas são as seguintes: 1) atendendo a que as taxas de resposta à vacina diminuem com a idade, os profissionais de Saúde deveriam ser imunizados precocemente, ainda na fase de formação; 2) a resposta à vacina será testada 1 a 2 meses após a terceira dose; 3) se o ac. anti-HBs  $\leq 10 \text{ UI / L}$ , o indivíduo deverá ser revacinado; 4) se ac. anti-HBs  $> 10$  e  $\leq 100 \text{ UI / L}$ , administrar dose de reforço (admitindo-se até dois ou três reforços na tentativa de obter titulações  $\geq 100 \text{ UI / L}$ ). Para o reduzido número dos que não respondem à vacinação ou o fazem de forma insuficiente, foram experimentadas algumas estratégias tais como:

a) o uso de doses mais altas de vacina (ex: na IRC recomendam-se  $40 \mu\text{g/dose}$ )<sup>12,20,21</sup>;

b) o recurso a um maior número de administrações (4, 5 ou mesmo 6 doses)<sup>12,21</sup>;

c) a associação de adjuvantes à vacina com a finalidade de auxiliar a resposta imunológica (Interleucina-2, Interferon alfa e gama, Timopentina, Factor de crescimento granulocitário, Zinco)<sup>22-26</sup>;

d) o recurso a novas vacinas mais recentemente testadas, contendo os epítopes antigénicos pré-S1, pré-S2 e S do envólucro viral, e que demonstraram uma imunogenicidade superior às convencionais que contêm apenas o Ag S; há evidências de que as regiões pré-S1 e pré-S2 têm um papel importante na potenciação da resposta anti-HBs, na prevenção da ligação do VHB ao hepatócito, na estimulação da produção de anticorpos eficazes na remoção das partículas víricas e ainda na estimulação da resposta imunitária celular<sup>27-29</sup>.

Não existem, no entanto, normas exactas e uniforme-

mente aceites por todos para orientação dos não-respondedores, exceptuando as referidas anteriormente nas alíneas a e b. O recurso a adjuvantes ou novas vacinas têm dado resultados nem sempre muito encorajadores em termos de melhoria das taxas de imunização, à custa de um agravamento considerável do suporte financeiro. Estas circunstâncias inviabilizam a sua utilização em ampla escala. Os anos vindouros e o trabalho de investigação que continua a fazer-se nesta área, decerto irão permitir acrescentar alguma esperança na erradicação do flagelo mundial que continua a ser a hepatite B.

#### AGRADECIMENTOS:

A Vítor Pombo e Telmo Costa pelo apoio informático e no tratamento estatístico dos dados.

A Solene Coelho pela disponibilidade permanente para efectuar as colheitas de sangue necessárias ao presente estudo.

#### BIBLIOGRAFIA

1. KANE M: Global programme for control of hepatitis B infection. *Vaccine* 1995;13 (suppl: 1):547-9
2. HADLER SC, MARGOLIS HS: Hepatitis B immunization: vaccine types, efficacy and indications for immunization. *Curr Clin Topics Infect Dis* 1992; 12:282-308
3. ZUCHERMAN AJ: Prevention of primary liver cancer by immunization. *N Engl J Med* 1997; 336 (26):1906-07
4. TILZEY AJ, PALMER SJ, BANATVALA JE, VINES SK, GILKS WR: Hepatitis B vaccine boosting among young healthy adults: (Letter) *Lancet* 1994;344:1438-39
5. GARROW JS: Obesity and Related Diseases: Ed: Churchill Livingstone, Edimburg, New York, 1988.
6. HALL A: J Hepatitis B vaccination: protection for how long and against what? *BMJ* 1993, 307: 276-77
7. HADLER SC, FRANCIS DP, MAYNARD JE et al: Long term immunogenicity and efficacy of Hepatitis B vaccine in homosexual man. *N Engl J Med* 1986; 315:209-14
8. FABRIZI F, ANDRULLI S, BACCHINI G, CORTI M, LOCATELLI F: Intradermal versus intramuscular hepatitis B re-vaccination in non-responsive chronic dialysis patients: a prospective randomized study with cost-effectiveness evaluation. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:1204-11
9. PAYTON CD, SCARISBRICK DA, SIKOTRA S, FLOWER AJE: Vaccination against hepatitis B: comparison of intradermal and intramuscular administration of plasma derived and recombinant vaccines. *Epidemiol Infect* 1993; 110:177-80
10. WEBER DJ, RUTALA WA, SAMSA JP et al: Obesity as a predictor of poor antibody response to hepatitis B plasma vaccine. *J Am Med Assoc* 1985; 254:3187-89
11. WINTER AP, FOLLETT EAC, MCINTYRE J, STEWART J, SYMINGTON IS: Influence of smoking on immunological responses to hepatitis B vaccine. *Vaccine* 1994; 12(9): 771-72
12. VAN-GEELEN JA, SCHALM SW: de Visser EM et al: Immune response to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Nephron* 1987; 45:216-18
13. ROSARIO JF, ORENSTEIN SR: Familial Failure of Hepatitis B Immunization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 23: 307-11
14. ALPER CA, KRUSKALL MS, MARCUS-BAGLEY D, et al: Genetic predisposition of nonresponse to hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 1989; 21:708-12
15. GESEMANN M, SCHEIERMANN N: Quantification of hepatitis B vaccine induced antibodies as a predictor of anti-HBs persistence. *Vaccine* 1995; 13:443
16. JILL W, SCHMIDT M, DEINHARD F, ZACHOVAL R: Hepatitis B vaccination: how long does protection last? *Lancet* 1984; ii:458
17. VINGERHOETS J, VANHAM G, KESTENS L, PENNE G, LEROUX-ROELS G, GIGASE P: Deficient T-cell responses in non-responders to hepatitis B vaccination: absence of TH1 cytokine production. *Immunology Letters* 1994; 39: 163-68
18. HSU HY, CHANG MH, HO HN, HSIEH RP, CHEN DS et al: Association of HLA-DR14-DR52 with low responsiveness to hepatitis B vaccine in Chinese residents in Taiwan. *Vaccine* 1993;11:1437-40
19. HARRISON J: Implementation of Department of Health guidelines for hepatitis B vaccination: a regional audit of NHS occupational health policies and procedures. *Occup Med* 1997; 47 (n°1):5-10
20. ROSMAN AS, BASU P, GALVIN K, LIEBER CS: Efficacy of a High and Accelerated Dose of Hepatitis B Vaccine in Alcoholic Patients: A Randomized Clinical Trial. *Am J Med* 1997; 103:217-22
21. GOLDWATER PN: Randomized, comparative trial of 20 µg vs 40 µg Engerix B vaccine in hepatitis B vaccine non-responders. *Vaccine* 1997; 15:353-56
22. MEUER SC, DUMANN H, MEYER ZUM BUSCHENFELDE K-H, KOHLER H: Low dose interleukin-2 induces systemic immune responses against HBs Ag in immunodeficient non-responders to hepatitis B vaccination. *Lancet* 1989; 1:15-17
23. CARLSSON T, STRUVE J: Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating factor Given as an Adjuvant to Persons Not Responding to Hepatitis B Vaccin. *Infection* 1997; 25 (n°2):129
24. TARR PE, LIN R, MUELLER EA, KOVARIK JM, GUILLAUME M, JONES TC: Evaluation of tolerability and antibody response after recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF) and a single dose of recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine* 1996; 14: 1199-1204
25. QUIROGA JA, CASTILLO I, PORRES JC et al: Recombinant gamma interferon as adjuvant to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Hepatology* 1990; 12: 661-63
26. GOLDWATER PN: Randomized comparative trial of interferon-a versus placebo in hepatitis B vaccine non-responders and hyporesponders. *Vaccine* 1994; 12 (5): 410-14
27. HAUBITZ M, EHLERDING G, BEIGEL A, HEUER U, HEMMERLING AE, THOMA HA: Clinical experience with a new recombinant hepatitis-B vaccine in previous non-reponders with chronic renal insufficiency. *Clinical Nephrology* 1996; 45 (n°3): 180-82
28. ZUCKERMAN JN, SABIN C, CRAIG FM, WILLIAMS A, ZUCKERMAN AZ: Immune response to a new hepatitis B vaccine in healthcare workers who had not responded to standard vaccine: randomised double blind dose-response study. *BMJ* 1997; 314: 329-33
29. GERLICH WH, DEEPEN R, HEERMANN KH, KRONE B, LU XY, SEIFER M, THOMSEN R: Protective potential of hepatitis B virus antigens other than the S gene protein. *Vaccine* 1990; 8: S63-S68