

## ARTIGO DE REVISÃO

### VACINA INATIVADA CONTRA A HEPATITE A: REVISÃO DA LITERATURA E CONSIDERAÇÕES SOBRE SEU USO

**Márcio Vieira Santos e Marta Heloísa Lopes**

*O desenvolvimento, licenciamento e comercialização recentes de uma vacina inativada contra a hepatite A (VIHA) têm possibilitado a obtenção de imunização ativa, segura e provavelmente duradoura contra essa doença. Estudos conduzidos em países desenvolvidos demonstram sua utilidade clínica na prevenção da hepatite A (HA) em viajantes susceptíveis que se dirigem a áreas de alta endemicidade, em crianças pré-escolares e trabalhadores de creches, além de avaliar o uso pós-exposição e em surtos epidêmicos. Os autores enfocam aspectos epidemiológicos atuais da hepatite A em diferentes regiões visando, através do conhecimento da epidemiologia da doença, esclarecer a utilidade que a VIHA teria no controle dessa doença nos países em desenvolvimento, especialmente no Brasil. Com base na sua eficácia, segurança e imunogenicidade, a VIHA se mostra de extremo valor a nível de proteção individual. Porém, devido ao pouco tempo de uso clínico desta vacina, não encontramos disponíveis recomendações formais para o seu uso nos países em desenvolvimento, especialmente a nível de Saúde Pública. Dados epidemiológicos atualizados sobre a HA nas diversas regiões brasileiras são essenciais para o desenvolvimento de uma estratégia racional de imunização.*

*Palavras-chaves: Vacina inativada contra a hepatite A. Epidemiologia. Profilaxia. Imunização.*

Hepatite A (HA), uma das mais antigas doenças conhecidas pelo homem, representa um problema de extrema importância para os países em desenvolvimento, devido aos altos coeficientes de incidência, assim como para os países desenvolvidos, nos quais, devido à melhoria das condições sanitárias e de higiene pessoal, tem se observado um declínio da incidência da moléstia e um aumento na idade de aquisição da infecção, resultando numa proporção considerável de adolescentes e adultos jovens susceptíveis ao vírus da hepatite A (VHA)<sup>10 20 44 53</sup>. Nesses locais, torna-se inevitável o aparecimento de novos casos se as medidas profiláticas falharem ou não forem tomadas perante situações de risco, particularmente com relação às viagens para áreas do mundo onde a infecção é altamente endêmica. As medidas preventivas inespecíficas para se evitar a exposição ao VHA, tais como higiene pessoal meticulosa, melhoria dos padrões sanitários da comunidade e ausência

de aglomeração humana, têm respondido pela diminuição da incidência da HA nos países desenvolvidos. Porém, em muitas ocasiões, tais medidas são impraticáveis e ineficazes, e até recentemente a única medida de controle específica contra a hepatite A era o uso da imunoglobulina humana normal (gamaglobulina humana), que proporciona proteção variável e por curtos períodos<sup>34</sup>. O desenvolvimento recente de vacinas de vírus inativados e de vírus vivos atenuados contra a HA tem possibilitado a obtenção de imunização ativa, duradoura e segura, tornando mais próxima a possibilidade teórica da erradicação dessa doença<sup>3</sup>.

A vacina inativada contra a HA (VIHA) tem sido amplamente estudada recentemente em vários países desenvolvidos do continente europeu, e os dados a respeito da dose, segurança, imunogenicidade e eventos adversos já são bem conhecidos. Entretanto, ainda permanecem muitas dúvidas com relação ao seu uso, como por exemplo: quem deve receber a mesma nos países em desenvolvimento, qual a melhor idade para imunização, as relações custo-benefício da sua utilização, a validade de seu uso pós-exposição, o tempo de permanência de anticorpos induzidos e a duração da proteção.

Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

Endereço para correspondência: Dr. Márcio Vieira Santos. R. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 255, Instituto Central, 4º andar. 05403-900 São Paulo, SP, Brasil.

Recebido para publicação em 23/02/96.

Sabe-se que, o desenvolvimento de estratégias de controle de determinada doença depende das condições epidemiológicas do local onde tais medidas serão implantadas. Com base nesse fato, tenta-se nesta revisão levantar os dados epidemiológicos relativos à HA no nosso meio e compará-los aos dos países onde a vacina já vem sendo utilizada, no sentido de tentar esclarecer a real importância da VIHA no Brasil, objetivando o seu uso apropriado em termos de saúde pública. Faz-se também uma revisão dos principais aspectos desta vacina .

*A epidemiologia da hepatite A.* A epidemiologia da HA está em fase de mudança. A doença ocorre em todo o mundo, mas a verdadeira incidência é desconhecida pois a maioria das infecções é assintomática ou apresenta sintomatologia leve, não sendo diagnosticadas nem notificadas. Por esses motivos, a epidemiologia da HA é melhor definida por estudos de soroprevalência, ou seja, pela frequência de anticorpos contra o VHA em determinada população<sup>29</sup>.

A transmissão do VHA de pessoa-a-pessoa dá-se tipicamente pela via fecal-oral, sendo o fígado infectado a principal fonte de partículas virais nas fezes. A transmissão ocorre comumente entre membros de uma mesma família e entre crianças e adultos em creches. Surtos hospitalares com transmissão a trabalhadores da área de saúde têm sido descritos, mas são raros<sup>36</sup>. A contaminação de água ou alimentos pelo VHA pode resultar em surtos de fonte comum. É possível, porém rara, a transmissão do vírus por transfusão de sangue<sup>36 53</sup> e seus componentes<sup>16</sup>. Durante o primeiro ano de vida é rara a ocorrência de sintomas acompanhando a infecção pelo VHA. Admite-se que anticorpos anti-VHA da classe IgG, transmitidos pela mãe através da placenta, forneçam proteção contra doença sintomática ou mesmo contra a infecção durante os primeiros 6 a 12 meses de vida. Com base nesses dados, pode-se esperar que, nos países de alta endemicidade, a maioria das mulheres em idade fértil já tenha sido infectada, e estejam portanto protegidas, o que é corroborado também pela raridade da transmissão vertical do VHA nesses locais<sup>23 31</sup>. Na verdade, o único relato bem documentado de transmissão vertical do VHA ocorreu nos EUA, tendo sido o recém-nascido fonte de transmissão do VHA a 10 adultos que trabalhavam naquela unidade de tratamento

intensivo neonatal<sup>49</sup>. A transmissão sexual do VHA é possível pelo contato oro-anal, comum entre homossexuais do sexo masculino, nos quais se têm descrito maior incidência da infecção pelo VHA, justificando sua inclusão entre outros patógenos entéricos transmissíveis sexualmente<sup>22</sup>.

Mudança global na idade de aquisição da doença tem sido relatada, especialmente nos países que apresentaram desenvolvimento recente considerável, com a observação de um crescente número de casos na vida adulta<sup>29</sup> .

Em termos mundiais, é possível a caracterização de diferentes regiões geográficas por padrão de infecção pelo VHA em áreas de alta, intermediária ou baixa endemicidade, correlacionando-se o nível de endemicidade com as condições higiênicas e sanitárias de cada região<sup>53</sup>:

- *Áreas de alta endemicidade:* são caracterizadas pela ampla disseminação do VHA, sendo exemplificadas por países em desenvolvimento (partes da África, Ásia, América Central e América do Sul) com condições sanitárias ou de higiene desfavoráveis. A maioria dos indivíduos infectados são crianças jovens, com menos de 5 anos de idade, que são, predominantemente, assintomáticos ou apresentam sintomatologia inespecífica. Conseqüentemente, as taxas de incidência da doença são baixas nessas áreas, onde epidemias são raras<sup>9 38 48 53</sup>.
- *Áreas de endemicidade intermediária:* as condições sanitárias são variáveis nos países em desenvolvimento (com economia em fase de transição) e em algumas regiões de países industrializados, e muitas crianças escapam da infecção pelo VHA durante a infância precoce. Entretanto, a circulação viral permanece alta, e a infecção tem ocorrido freqüentemente em adolescentes ou adultos jovens que, de forma diferente, são na sua maioria sintomáticos. Sabe-se que a severidade das manifestações clínicas da HA depende da idade do hospedeiro, de tal forma que, quase todas as crianças infectadas antes dos 2 anos de idade não desenvolvem sinais ou sintomas específicos da doença, enquanto a maioria (mais que 75%) dos adultos acima dos 18 anos de idade usualmente apresentam manifestações características, com icterícia e colúria<sup>22 53</sup>. Portanto, nesses locais, o número de casos relatados de doença atribuída ao

VHA pode ser maior que nas regiões de alta endemicidade. Surtos epidêmicos podem ocorrer, sendo importante a transmissão pessoa-a-pessoa. Em certas populações, a doença se manifesta sob a forma de epidemias cíclicas: o vírus se dissemina entre as crianças até que se exaurem os susceptíveis e, após período de vários anos, emerge uma nova coorte de indivíduos susceptíveis, permitindo o retorno das altas taxas de transmissão viral e doença clínica. Assim, em muitas comunidades de endemicidade intermediária e baixa, a HA pode emergir como um problema, paradoxalmente, quando as condições e o padrão de vida melhoraram sensivelmente<sup>17</sup>. Exemplos de áreas de endemicidade intermediária incluem países do leste europeu, algumas repúblicas da antiga União Soviética e partes das Américas e Ásia<sup>38</sup>.

• *Áreas de baixa endemicidade:* na maioria dos países industrializados, as condições sanitárias e de higiene são boas, e as taxas de infecção, tanto em crianças quanto em adultos, são baixas, ocorrendo a infecção em idade mais avançada. Entretanto, surtos ainda podem ocorrer em algumas localidades, e nas áreas de endemicidade muito baixa têm-se descrito grupos de risco específicos, nos quais a infecção ocorre com maior frequência, tais como viajantes a áreas de alta endemicidade, trabalhadores em creches e instituições para deficientes mentais, algumas categorias de trabalhadores em área de saúde, militares, trabalhadores do sistema de esgoto, usuários de drogas endovenosas e homossexuais masculinos<sup>10 44 49</sup>. Devido ao número crescente de pessoas susceptíveis ao VHA nos países industrializados, existe a possibilidade crescente de epidemias explosivas, devido à contaminação fecal de uma fonte única qualquer (por exemplo: água de beber e alimentos)<sup>29</sup>.

A seguir, citam-se, a título de exemplo, dados epidemiológicos relativos à HA em um país desenvolvido e, em seguida, dados epidemiológicos nacionais.

Nos Estados Unidos da América (EUA), a HA é o tipo predominante de hepatite viral, com mais de 23.000 casos relatados em 1992<sup>21</sup>. Durante as últimas quatro décadas, a taxa de incidência de HA, com base no número de casos notificados ao Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tem mostrado

tendência ao aumento expressivo no número de casos a aproximadamente cada 10 anos, com grandes epidemias ocorridas em 1954, 1961 e 1971. No início da década de 80, entretanto, os níveis epidêmicos esperados não foram alcançados e não se observaram novos aumentos até 1989<sup>1 21</sup>. Em 1991, o CDC relatou uma das mais baixas taxas de incidência de HA já relatadas nos EUA: 9,1 casos/100.000 pessoas. Após corrigir os dados, considerando a subnotificação e os casos assintomáticos, o CDC estima que 136.000 infecções pelo VHA tenham ocorrido em 1991<sup>1 25</sup>.

Dados soropidemiológicos à respeito da prevalência de anticorpos ao VHA (anti-VHA) na população americana no período de 1976 a 1980 são disponíveis a partir do National Health and Nutrition Examination Survey II: a prevalência global do anti-VHA foi de 38,2%; as taxas aumentavam com a idade, variando de 10,9% em pessoas com menos de 5 anos de idade, a 76,6%, nas com 50 anos ou mais<sup>1 21</sup>. Nos EUA, o contato pessoa-a-pessoa é o modo mais comum de transmissão, como demonstrado pelas altas taxas de infecção entre comunicantes domiciliares de pessoas com HA e entre crianças em creches. Surtos por fontes alimentares também ocorrem, e os veículos de transmissão mais freqüentes são os alimentos crus ou manipulados após a cocção. Viagens a países em desenvolvimento constituem também importante fator de risco para HA nos EUA. A distribuição dos fatores de risco associados com a HA nos EUA tem-se mantido relativamente estável na última década. No início dos anos 80, entretanto, foi observado aumento no número de casos de HA em usuários de drogas endovenosas; esse aumento alcançou um pico em 1986, quando 19% dos casos notificados foram associados com o consumo de drogas, retornando aos níveis pré-epidêmicos (2% de todos os casos) em 1991. Ao mesmo tempo houve aumento marcante no número de casos de HA entre homossexuais do sexo masculino em várias áreas metropolitanas nos EUA, possivelmente relacionado à prática sexual sem proteção. Com base nos padrões de transmissão anteriores, nessas áreas podem vir a ocorrer epidemias, à medida que o VHA se espalha a outros subgrupos da população<sup>1</sup>.

São poucos os estudos de prevalência da HA no Brasil, quer seja por soroprevalência ou por taxa de incidência de HA sintomática. Estudo realizado na região Amazônica

(municípios de Boca do Acre e Sena Madureira), por Bensabath e cols<sup>5</sup> demonstrou que as hepatites virais são causa importante de morbidade e mortalidade na Bacia Amazônica, sendo a taxa de mortalidade por hepatite 5 a 10 vezes mais alta que a média do restante do Continente Americano. Em Boca do Acre (período de junho de 1979 a dezembro de 1984), a taxa global de hepatite aguda foi de 3,33 casos/1.000 habitantes/ano, índice 10 vezes maior que as taxas relatadas na América do Norte e em outras partes do Brasil, e três vezes mais alta que em outras partes da Bacia Amazônica. A taxa de hepatite fulminante foi de 0,365 casos/1.000 pessoas/ano, cifra quase 100 vezes mais alta que a conhecida em outras partes das Américas e 10 vezes superior à de outras partes do Amazonas. Trata-se, portanto, de região altamente endêmica para a infecção pelos vírus hepatotrópicos, principalmente os vírus das hepatites A e B, além do vírus da hepatite C e o vírus delta, fazendo daquela região um local importante no que diz respeito ao estudo das superinfecções por vírus da hepatite A e delta em indivíduos portadores crônicos do vírus da hepatite B. A prevalência de anti-VHA nos indivíduos estudados no município de Boca do Acre foi de 45,8% no grupo etário de 0 a 2 anos, 59,4% de 3 a 4 anos, 83,6% de 5 a 9 anos e 100% no grupo etário de 10 ou mais anos de idade, mostrando que, naquela localidade, a HA habitualmente é contraída na idade pré-escolar, verificando-se aumento rápido da prevalência de anticorpos com a idade. Dos 401 casos de hepatite aguda no período estudado, 143 (37%) foram de HA, 16 (4,2%) de hepatite A e B, 185 (48%) de hepatite B e 38 (10%) de hepatite não A-não B. A HA foi mais freqüente em crianças com menos de 10 anos de idade, sendo o tipo predominante nesse grupo. A hepatite B foi freqüente em todos os grupos etários e representou 40% dos casos de hepatite em crianças menores de 10 anos de idade e 60% dos casos entre adultos e crianças maiores. A hepatite não A-não B afetou sobretudo adultos, sendo a causa principal de doença nos indivíduos com mais de 40 anos. Trinta e três dos 44 casos de hepatite fulminante nesse período foram submetidos a testes sorológicos: dois foram diagnosticados como HA sobreposta à infecção crônica pelo vírus da hepatite B; quatro como hepatite não A-não B, e 27 (82%) como hepatite B. Portanto, no geral, observou-se que a HA tem letalidade muito baixa, e que

os casos fulminantes ocorreram somente em portadores do vírus da hepatite B e do delta, indicando que a infecção aguda pelo vírus da HA em um portador do vírus B e delta pode causar mortalidade extraordinariamente alta. Considerando as altas taxas de prevalência das hepatites virais na Bacia Amazônica, os autores consideram justificável a administração da vacina contra a HA nos habitantes daquela região<sup>5</sup>.

Estudo da prevalência de anticorpos anti-VHA (Ig G) foi realizado em estudantes da Universidade Federal Fluminense (RJ) no ano de 1986, dos cursos de Enfermagem, Veterinária, Farmácia, Nutrição e Medicina<sup>32</sup>. A média de idade foi de 21 anos, e foram obtidas informações sobre as condições sócio-econômicas dos alunos analisados. De 127 soros testados, 54,3% foram positivos para o anti-VHA. Essa foi a taxa mais baixa encontrada em amostras de soro obtidas de brasileiros adultos. A prevalência mais alta de anticorpos foi encontrada em estudantes de enfermagem (75,8%), e a mais baixa nos estudantes de medicina (38%). Dos estudantes que moravam em São Gonçalo (RJ), 79,6% foram positivos para o anti-VHA, refletindo as condições ambientais mais desfavoráveis daquela cidade. A análise da situação sócio-econômica mostrou que as famílias dos estudantes de enfermagem tinham renda mensal menor e nível educacional mais baixo.

Pannuti e cols<sup>33</sup> avaliaram a prevalência de anticorpos para o VHA (IgG- radioimunoensaio) na cidade de São Paulo, analisando 540 amostras de soro de crianças e adultos pertencentes a duas populações distintas sob o ponto de vista sócio-econômico. A prevalência de anticorpos no grupo de baixo nível sócio-econômico alcançou 75% em crianças com 2 a 11 anos e 100% nos adultos, enquanto no grupo de nível sócio-econômico médio, a prevalência foi acentuadamente mais baixa (40,3% nas crianças de 2 a 11 anos e 91,9% nos adultos). Em candidatos a doador voluntário de sangue, de nível sócio-econômico médio, a prevalência de anticorpos foi de 90,4%. Portanto, em adultos, alta prevalência de anti-VHA foi encontrada, independentemente do nível sócio-econômico<sup>33</sup>.

*Características da vacina inativada contra a hepatite A (VIHA) e seu uso clínico.* As vacinas inativadas desenvolvidas para o uso comercial baseiam-se no cultivo do VHA em linhagem de

células diplóides humanas do tipo MRC-5, e utilizam 2 cepas: a cepa CR326F e a HM175. Os dados aqui citados dizem respeito à vacina que utiliza a cepa HM175, porém os estudos realizados mostram excelente imunogenicidade, pequena reatogenicidade para adultos e crianças com mais de 2 anos de idade, para as duas apresentações<sup>50</sup>.

As tentativas do desenvolvimento de uma vacina de vírus vivos-atenuados foram inicialmente frustradas: os níveis de passagem do vírus em culturas de células, além dos quais a patogenicidade era perdida, não resultaram em vacinas imunogênicas. Outro problema teórico desse tipo de vacina reside na probabilidade hipotética da reversão de vírus atenuados para formas virulentas, ao ocorrer a transmissão do vírus vacinal a comunicantes<sup>12,22</sup>. Portanto, as atenções voltaram-se para as vacinas inativadas, nas quais a virulência é atenuada inicialmente através de passagens sucessivas em cultura de células (a um nível em que a imunogenicidade é mantida), após o que o vírus é purificado e inativado pela exposição ao formaldeído; a seguir, a vacina é adsorvida em hidróxido de alumínio. Essas vacinas mantêm os epítomos imunodominantes dos vírus naturais e induzem a formação de anticorpos neutralizantes<sup>20</sup>, sendo o conteúdo antigênico da vacina quantificado pelo método de ELISA, e a potência da vacina expressa arbitrariamente em Unidades ELISA (UE) de antígeno.

As pesquisas clínicas com a VIHA começaram em dezembro de 1988 e, até o fim de 1993, foram iniciados 104 estudos clínicos<sup>10</sup>. Citam-se os resultados de estudos completados até o momento, no sentido de determinar a segurança e tolerabilidade da vacina, a dose e o esquema ideais, a via de administração, o momento oportuno da chamada dose "booster" (de reforço), o tempo de persistência dos anticorpos e a duração da proteção, além da avaliação da proteção conferida pela vacina quando administrada a grupos específicos.

A resposta imune induzida pela VIHA é avaliada, em momentos-chaves após a inoculação, através de reações sorológicas para a pesquisa de anticorpos por várias técnicas, sendo considerada melhor a técnica do ELISA. Soroconversão é definida por concentração de anticorpos maior ou igual a 20mUI/ml por tal método<sup>10</sup>. Sabe-se que a infecção pelo VHA resulta em imunidade por

longos períodos ou por toda a vida, e que tal imunidade é mediada por anticorpos contra o VHA, particularmente anticorpos com atividade neutralizante. Porém, a concentração sérica mínima de anticorpos necessária para proteção não é conhecida com certeza, embora admita-se que níveis séricos maiores ou iguais a 10mUI/ml sejam protetores<sup>14</sup>. Os títulos de anticorpos alcançados após a vacinação são consideravelmente maiores que os alcançados após a administração de gamaglobulina, e, embora menores do que os obtidos após a infecção natural, devem ser suficientes para a proteção contra a doença<sup>13</sup>.

Existe relação direta entre a dose do antígeno vacinal e a imunogenicidade, e a dose de 720UE (1ml da vacina) foi selecionada como a dose ideal para adultos e 360UE (0,5ml da vacina) para crianças<sup>14</sup>.

Na maioria dos estudos, o esquema de vacinação primário consistiu de 2 doses (0 e 1 mês ou 0 e 14 dias), seguido de dose "booster" 6 ou 12 meses mais tarde<sup>14,44</sup>. Porém, estudos subsequentes mostraram que a resposta imune produzida com a dose de 720UE para adultos era a mesma independente se a segunda dose fosse administrada com intervalo de 4 semanas, 2 semanas, ou no mesmo dia no braço oposto, levando ao recente desenvolvimento de uma apresentação da vacina em dose única de 1440EU<sup>8,44</sup>, que tem a vantagem teórica de maior aderência e conveniência, promoção de resposta anticórpica mais rápida e aumento na média geométrica dos títulos (MGT) de anticorpos obtida, sendo a resposta anticórpica subsequente comparável com a do esquema convencional. Para aqueles que não têm tempo para completar o esquema primário de duas doses, este esquema em dose única apresenta vantagens práticas, e teria indicações claras para os casos onde a proteção se faz necessária em pouco tempo, como para viajantes, militares destinados a combate em áreas de alta endemicidade e para a profilaxia da HA pós-exposição.

Devido à introdução recente da VIHA na prática clínica e da necessidade de seguimento por observação contínua para se obterem conclusões definitivas, a análise da duração da proteção conferida fica prejudicada. O maior tempo de seguimento descrito é de 36 meses após a primeira dose em adultos, num esquema de 720UE por dose, nos tempos 0, 1 e 6 meses. Com base em cálculos matemáticos

desenvolvidos após a determinação da queda anual da MGT de anticorpos, níveis protetores de 20mUI/ml devem manter-se durante no mínimo 20 anos, possivelmente por até 30 anos<sup>45</sup>. O seguimento desses participantes demonstrará se há persistência real dos anticorpos e ajudará a fundamentar a extrapolação matemática proposta. A necessidade de doses “booster” a longo prazo não pode ser ainda avaliada com base nos estudos já concluídos.

O último teste na avaliação de uma determinada vacina, após a mesma ter-se mostrado altamente imunogênica em estudos de menor escala, é a determinação de sua eficácia na proteção dos vacinados contra a doença (sintomática ou não). Para se obterem resultados estatisticamente significantes, os estudos de eficácia protetora devem envolver centenas a milhares de participantes em comunidades onde a HA é altamente endêmica. Estudo bem conduzido e com tais características foi realizado na Tailândia<sup>19</sup>, sendo estudo controlado, randomizado, duplo-cego, envolvendo 40.199 crianças de 1 a 16 anos de idade, vindo a confirmar a imunogenicidade e a proteção conferida pela vacina inativada utilizada.

Os efeitos adversos da VIHA têm sido infreqüentes e mínimos. A reação mais comum, relatada em cerca de um terço dos adultos vacinados, é constituída por dor leve no local de injeção, durante aproximadamente um dia. Raramente se observam induração local, eritema ou edema. Cefaléia, mal-estar geral e fadiga são relatados em menos de 10% dos vacinados. Nenhum evento adverso grave, como anafilaxia, foi relatado. A vacina é contra-indicada em pacientes alérgicos a qualquer um dos seus componentes, incluindo a albumina bovina e o alumínio. A segurança de seu uso em gestantes não foi avaliada. As citações que avaliaram a freqüência de eventos adversos à vacinação em indivíduos previamente imunes à HA são escassas<sup>6</sup>, mas de maneira geral não se nota diferença nesses casos.

A vacina apresenta boa estabilidade térmica, o que facilita sua distribuição e aplicação mesmo em condições ambientais subótimas<sup>51</sup>.

Os estudos disponíveis até o momento são sobre o uso da vacina por via intramuscular (IM), sendo recomendada a aplicação no músculo deltóide. A utilização do chamado “jet injector”, que proporciona injeção também IM,

mostrou-se eficaz com relação à imunogenicidade, sem maiores reações adversas<sup>18</sup>, sugerindo que sua utilização pode ser útil nas vacinações em massa devido à rapidez e economia desse método de aplicação.

*Uso clínico da VIHA.* A HA é considerada atualmente a infecção prevenível por vacina mais freqüente em viajantes que partem de países de baixa endemicidade para a HA com destino a países de alta endemicidade; portanto, a avaliação do risco de HA nessa população é essencial, e deve basear-se, idealmente, no conhecimento da taxa de incidência de infecção sintomática em viajantes não-protetidos, na proporção desses viajantes que são susceptíveis (anti-VHA negativos) e no impacto da infecção, particularmente a sua letalidade<sup>41-42</sup>. Esta tem sido uma das principais indicações da VIHA em países industrializados, e a mesma já vem sendo utilizada na Europa, EUA, Canadá e Austrália com essa finalidade<sup>17-52</sup>. Obviamente, a HA não constitui risco para viajantes procedentes de regiões de alta endemicidade. Portanto, os estudos que avaliam essa indicação são realizados em países de baixa ou moderada endemicidade<sup>46</sup>. Como regra geral, e para a prevenção da HA em viajantes, recomenda-se evitar a ingestão de alimentos de risco (tais como alimentos crus ou manipulados após a cocção, refeições em locais insalubres e suspeitos, e frutos do mar), além de natação em águas naturais ou piscinas inadequadamente cloradas. Entretanto, tendo em vista o risco permanente de aquisição da HA, mesmo quando se tomam as precauções mencionadas, somado aos conhecimentos da resistência do VHA às condições ambientais, foi recomendado, até recentemente, o uso da imunoglobulina humana normal (gamaglobulina comercial) como principal estratégia de prevenção da HA em viajantes. Entretanto, o uso da gamaglobulina comercial apresenta várias desvantagens, tais como a curta proteção conferida (3 a 5 meses), havendo necessidade de doses repetidas em outras viagens e para os que passam a residir nas áreas altamente endêmicas<sup>10</sup>. Outras desvantagens seriam: proteção incompleta e incerta, tendo em vista a quantidade variável de anticorpos contra o VHA presentes no lote de gamaglobulina utilizado<sup>34</sup>; risco, pouco provável, mas não desprezível, de transmissão de outras doenças, tais como a hepatite C7; grande volume da solução a ser usado por via IM, causando desconforto local e interferência na resposta a

outras vacinas<sup>41</sup> (febre amarela, por exemplo). A VIHA, introduzida para uso clínico em 1992, tem muitas vantagens quando comparada com a imunoglobulina humana normal, a saber<sup>41</sup>: maior eficácia protetora (97 a 100% contra 85%), proteção por 10 a 25 anos ou mais e ausência de interação com outros imunógenos. A introdução da VIHA em apresentação de 1440UE/dose, a ser utilizada em dose única, traz vantagens evidentes principalmente na profilaxia da HA em viagens: a resposta anticórpica é mais rápida, com 86 a 100% dos vacinados desenvolvendo anticorpos no 14<sup>º</sup> dia. Assim, somente uma aplicação pouco antes de ser iniciada a viagem pode ser eficaz. Sem dúvida, o custo da vacina é alto, mas quando se analisa a questão em termos de tempo de proteção, a relação custo-benefício é menor para a vacina que para a gamaglobulina comercial<sup>41</sup>. Portanto, a única vantagem desta é a rápida proteção induzida (a partir do 1<sup>º</sup> dia) e o custo mais baixo; a vantagem relacionada ao custo inferior só é válida para os casos em que a visita à países de alta endemicidade é muito rara.

Avaliação detalhada da relação custo-benefício da vacinação contra a HA em viajantes foi levada a termo em estudos conduzidos em países europeus<sup>46</sup>. As variáveis que interferiram na relação custo-benefício foram a frequência das viagens, o seu tempo de duração e o grau de endemicidade da HA no país de origem, devendo-se levar em conta também os custos do tratamento da HA instalada. A conclusão geral da maioria desses estudos é que a imunização passiva continua sendo a estratégia de prevenção mais custo-efetiva para os casos em que não se espera mais de 2 viagens de curta permanência num período de 10 anos. Para os viajantes que viajarão 3 ou mais vezes num período de 10 anos, ou para viagens por mais de 6 meses, a imunização ativa antes da primeira viagem é uma opção mais custo-efetiva, especialmente quando se utiliza o esquema de dose de 1440UE da vacina nos tempos 0 e 6 meses<sup>46</sup>.

Tendo em conta as dimensões continentais do Brasil e as marcantes diferenças regionais no que diz respeito às condições socio-econômicas, assim como inexistência de dados globais relativos à incidência da HA em nosso meio, não se pode descartar que, também em nosso país, algumas viagens sejam consideradas de risco para aquisição da HA, especialmente para regiões costeiras.

*Uso em crianças pré-escolares.* A inclusão dessa faixa etária como grupo alvo para receber a vacina contra a HA baseia-se em sua importância na epidemiologia da doença: o chamado "comportamento oral" destas crianças, a falta de treinamento para o uso de sanitários e o não-controle esfinteriano contribuem para grande facilidade de transmissão do vírus da HA e de outros patógenos entéricos<sup>4</sup>. Essas crianças habitualmente freqüentam creches, onde as infecções entéricas são comuns. Surto de HA em crianças de creches disseminam-se rapidamente a adultos susceptíveis que trabalham nesses locais e aos comunicantes domiciliares. Assim, crianças em idade pré-escolar constituem uma importante fonte de infecção pelo VHA para a comunidade, e qualquer medida de controle destinada a identificar e intervir na transmissão do VHA em creches provavelmente terá efeito favorável, no sentido de diminuir as taxas de incidência da hepatite A na comunidade<sup>4</sup>. Habitualmente, a infecção nessa faixa etária é assintomática; porém encerra, da mesma forma, o risco de transmissão a adultos. Cerca de 18% dos casos notificados ao CDC são associados com creches<sup>1,21</sup>, e muitos dos casos sem fator de risco identificável devem também estar associados com essa fonte. A VIHA é segura e altamente imunogênica nessa faixa etária. Na grande maioria dos estudos realizados com a VIHA, a faixa etária dos vacinados foi de crianças com mais de um ano de idade e adultos, e as indicações do fabricante da vacina incluem somente crianças com mais de 2 anos. Estudo recente avaliou a imunogenicidade da VIHA em lactentes nascidos de mães anti-VHA negativas e positivas, utilizando a dose de 360UE aos 2, 4 e 6 meses de idade, e concluiu que a vacina é imunogênica nas duas situações, porém a MGT foi maior no grupo de lactentes nascidos de mães anti-VHA negativas, tendo-se salientado a necessidade do seguimento desses grupos para se determinar a real importância da interferência de anticorpos maternos passivamente transmitidos na duração da proteção conferida<sup>37</sup>.

*Uso da vacina pós-exposição:* Gamaglobulina comercial, contendo altos títulos de anticorpos contra o VHA, tem sido usada até o momento em pessoas que possam ter sido expostas ao VHA, com o objetivo de prevenir a infecção ou atenuar a sua expressão clínica. Entretanto, devido à natureza passiva da imunidade

conferida, a proteção promovida pela gamaglobulina comercial dura aproximadamente 3 meses. Sabe-se de estudos prévios que a VIHA é altamente imunogênica e, na dependência da dose, a resposta anticórpica protetora pode ser alcançada 2 semanas após a aplicação. A grande proporção de soroconversão depois de apenas uma dose aplicada em crianças sugere que a vacina possa ser útil em esquemas de profilaxia pós-exposição e no controle de surtos de HA em creches<sup>4</sup>. Levando-se em consideração o período de incubação relativamente longo da HA (15 a 45 dias), pode-se esperar algum efeito protetor da vacina em condições de pós-exposição<sup>35</sup>. Dispõe-se de poucos estudos experimentais (modelo animal *in vivo*) destinados a avaliar o uso pós-exposição da VIHA<sup>11 35</sup>. Uma vez que esses estudos foram realizados em pequeno número de animais, uma avaliação estatisticamente válida não pode ser feita. Entretanto, os resultados sugerem que a imunização ativa pós-exposição com a vacina deva ser protetora e a eficácia de tal indicação deve ser comparada à proteção conferida pela imunoglobulina humana normal em trabalhos posteriores<sup>11 35</sup>.

*Uso da vacina inativada em surtos epidêmicos.* Um estudo conduzido na Eslováquia avaliou a eficácia da VIHA em promover o controle da progressão de um surto da doença vigente em duas cidades vizinhas daquele país. A vacina foi administrada a 404 de 624 crianças em idade escolar (uma dose de 360UE), e 373 receberam a segunda dose 30 dias após a primeira. A partir do início da vacinação nas escolas até o fim da epidemia, 9 casos ocorreram em crianças de idade pré-escolar, 8 dos quais no grupo não-vacinado; o único caso ocorrido entre os vacinados foi observado em uma criança de 6 anos que recebera 2 doses da vacina em 3/12/92 e 4/1/93. Esta criança apresentou doença anictérica em 13/1/93, 43 dias após receber a primeira dose, com elevação mínima de transaminases e IgM positivo anti-VHA. A taxa de ataque da doença nas crianças não-vacinadas foi de 5,1% e nos vacinados de 0,25%. Durante a epidemia, 19 crianças receberam imunização passiva, das quais 3 apresentaram doença leve, 20 dias, em média, depois da administração da imunoglobulina. A vacinação de crianças foi considerada efetiva em promover o controle

deste surto, uma vez que a epidemia em toda a comunidade encerrou-se 2 meses após a administração da segunda dose da vacina, provavelmente refletindo a importância da transmissão intrafamiliar naquele surto<sup>34</sup>.

*Associação com outras vacinas:* Assim como ocorreu com a vacina contra a hepatite B, a vacina contra a HA é provavelmente útil não somente para proteção individual, mas também para a proteção da comunidade<sup>2</sup>. Para a sua introdução em programas de imunização de rotina, e se assim algum dia for indicada, a vacina contra a HA deveria ser preferencialmente combinada com outras vacinas. Em estudo recente, foi investigada a combinação da VIHA (720UE) com a vacina contra a hepatite B (20µg do antígeno de superfície do vírus da hepatite B), ambos os conteúdos antigênicos adsorvidos em hidróxido de alumínio, reunidos em volume único de 1ml. Tal vacina combinada foi comparada em termos de tolerabilidade e imunogenicidade com a administração simultânea dos dois componentes vacinais de forma separada ou misturada em um volume único de 2ml. Concluiu-se que as taxas de soropositivação e proteção foram de 100% para ambos os antígenos, nos dois esquemas empregados (administração combinada e simultânea), tendo a administração combinada e simultânea misturada promovido títulos significativamente maiores de anticorpos anti-VHA e anti-HBs, com ótima tolerabilidade. Esse dado merece destaque, pois o desenvolvimento de vacinas combinadas segue tendência moderna de redução do número de injeções, diminuindo custos e melhorando a adesão ao esquema vacinal. No caso da vacina combinada contra a hepatite A e B, a melhora na imunogenicidade dos 2 antígenos poderia ser explicada pelo aumento na produção local de citocinas e a conseqüente ativação macrofágica, com apresentação antigênica mais eficaz. Essa hipótese merece, com certeza, mais investigações<sup>2</sup>.

*Conclusões.* No controle da hepatite A, a profilaxia se destaca como medida mais importante, uma vez que a doença em si não requer, na grande maioria dos casos, tratamento específico. No entanto, trata-se de doença com sérias repercussões clínicas, especialmente nos adultos, além das perdas econômicas decorrentes da doença e seu tratamento e as perdas indiretas decorrentes do absenteísmo ao trabalho, que pode ser de semanas a meses. Cada vez mais descrevem-se

complicações raras relacionadas diretamente com a infecção pelo VHA, tais como insuficiência renal aguda em casos não-fulminantes, aplasia eritrocítica pura, púrpura trombocitopênica imune-mediada, desencadeamento de hepatite crônica auto-imune do tipo I em indivíduos susceptíveis, síndrome nefrótica decorrente de glomerulonefrite<sup>25 26 39 47 55</sup>, além das manifestações atípicas mais comuns, constituídas por recaídas da doença e colestase prolongada<sup>43</sup>. Menos de 1% dos casos cursam com hepatite fulminante, com alta letalidade. Devido à alta incidência da infecção, a HA é uma causa importante de hepatite fulminante<sup>28 43</sup>. Para o tratamento de casos de HA aguda grave e hepatite fulminante, começam a aparecer na literatura relatos do uso de interferon-beta, com resultados iniciais promissores<sup>54</sup>, além do transplante de fígado, que é a terapêutica atual recomendada para os casos de falência hepática instalada.

A melhoria das condições higiênico-sanitárias da comunidade persiste como a medida profilática mais importante, destinada a prevenir a transmissão e a exposição ao agente infeccioso, mas, sem dúvida, a disponibilidade de vacinas efetivas contra a HA trouxe contribuição extremamente importante para o controle dessa doença, restando pequeno papel à imunoglobulina humana normal nos tempos atuais. Pela primeira vez, tem-se falado com mais esperança sobre a possibilidade de erradicação da HA<sup>3</sup>. Das características necessárias para se definir uma doença como erradicável, a única que ainda não podia ser atribuída à HA era a disponibilidade de uma vacina que mantivesse alto nível de imunidade na população. A HA é causada por somente um vírus, com apenas um sorotipo dotado de pequeno grau de variação genética; o homem é o único hospedeiro do agente etiológico, não se conhecendo outros reservatórios do VHA na natureza; a imunidade conferida pela doença/infecção é duradoura e permanente, esperando-se o mesmo da vacinação<sup>27</sup>. Resta saber qual o papel que a VIHA terá nesse processo daqui por diante. Em termos teóricos, o imunógeno ideal a ser usado na vacina contra a HA seria um vírus vivo atenuado, que conferiria proteção mais prolongada, utilizando-se provavelmente dose única, a custo mais baixo e de mais fácil administração. Embora a replicação do vírus da HA no trato gastrointestinal seja suspeitada, faltam dados

para suportar essa hipótese<sup>40</sup>; estudos recentes negam essa possibilidade<sup>27</sup>. Portanto, a necessidade de indução de proteção em nível de trato digestivo não é uma característica indispensável do imunógeno ideal, mas seria desejável, uma vez que a entrada do vírus se dá pelo tubo digestivo.

As desvantagens da VIHA são o alto custo atual da vacina, a necessidade de múltiplas doses, ausência de estímulo para a produção de IgA secretora e o tempo ainda desconhecido da duração da proteção.

A VIHA encontra-se disponível em mais de trinta países em todo o mundo. O questionamento com relação a esse imunógeno, na fase atual dos conhecimentos, é se ele é realmente a vacina ideal para a realidade epidemiológica do Brasil e qual o verdadeiro papel que a VIHA poderá vir a ter como medida profilática no âmbito da Saúde Pública. Se o objetivo da vacinação contra a HA for a proteção individual, então não se pode negar o seu extremo valor, e pelas características da vacina, especialmente sua imunogenicidade, segurança e eficácia, as principais indicações estudadas nos países desenvolvidos se adaptam também aos indivíduos susceptíveis no nosso meio, especialmente os adultos. O uso adequado de qualquer vacina em nível de Saúde Pública requer dados epidemiológicos atualizados, e um dos intuítos desta revisão foi levantar dados em nosso meio: dispõem-se de poucos estudos de soroprevalência da HA, com dados nem sempre recentes. Conclui-se que um amplo estudo atual da prevalência da HA nas diversas regiões do nosso país é de extrema importância.

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em memorando destinado a avaliar medidas de controle da HA em saúde pública<sup>53</sup>, considera que em áreas de alta endemicidade, é difícil e impraticável identificar grupos de riscos para a aquisição da HA, e qualquer estratégia de prevenção deve levar em consideração que a faixa etária de crianças com menos de 5 anos de idade é o único grupo de risco evidente nesses locais. Entretanto, levando-se em consideração que a infecção é na sua maioria assintomática ou clinicamente inexpressiva nessa faixa etária, somado ao alto custo atual da VIHA e a duração incerta da proteção conferida, a relação custo-benefício de um programa de imunização em massa de crianças deve ser muito alta para a maioria dos

países em desenvolvimento, ainda mais quando se leva em consideração a existência de outros problemas de saúde nesses países. À medida em que o custo da vacina diminuir (e isto pode ser alcançado através da produção nacional da mesma<sup>15</sup>), que a HA-doença se tornar importante devido ao conhecido deslocamento da infecção para faixas etárias mais altas e mais dados ficarem disponíveis a respeito da duração da imunidade conferida, novas considerações poderão ser feitas com relação ao custo-benefício de um programa mais amplo de vacinação. Deve ser destacado que o desenvolvimento sócio-econômico nos países em desenvolvimento não é um processo uniforme, e que a melhoria nos parâmetros que influenciam no risco de infecção pelo VHA em alguns locais pode ser mais intensa do que na comunidade como um todo. Como resultado, indivíduos que crescem em áreas de maior desenvolvimento tendem a escapar da infecção em idade precoce, tornando-se adultos susceptíveis, que inexoravelmente serão expostos ao VHA ao interagirem com o ambiente fora de suas próprias casas. Nesses indivíduos, a OMS sugere que a vacinação contra a HA deva ser considerada durante a vida escolar (antes da fase produtiva de trabalho)<sup>53</sup>.

Sem dúvida, pesquisas visando o desenvolvimento de outras vacinas contra a HA continuarão a ocorrer, a despeito do licenciamento da vacina inativada. A vacina de vírus vivo atenuado, em teoria, seria um melhor imunógeno vacinal. No entanto, as maiores dificuldades na sua aceitação residem nos altos custos dos ensaios clínicos destinados a avaliar sua segurança e imunogenicidade de maneira conclusiva. A estabilidade fenotípica e genotípica do vírus vacinal, a ausência de excreção e transmissibilidade a comunicantes íntimos são características desejáveis de tais vacinas. Porém, até o momento não se pode excluir a possibilidade de reversão do vírus vacinal atenuado para formas virulentas, uma vez que não se determinou(aram) a(s) mutação(ões) exata(s) responsável(is) pela atenuação; a deleção do segmento genômico que determina a virulência seria a única garantia dessa irreversibilidade. No entanto, uma vacina de vírus vivo atenuado foi testada e licenciada na República Popular da China. Por todas essas razões, somadas às dificuldades esperadas para se obter aprovação de testes,

os estudos de uma vacina de vírus vivo atenuado contra a HA foram praticamente interrompidos nos países industrializados, especialmente após a introdução da VIHA no comércio.

Outros rumos possíveis para o estudo e o desenvolvimento de vacinas contra a hepatite A incluem o uso de novas formulações adjuvantes, de técnicas convencionais ou de DNA-recombinante para a obtenção de vacinas de subunidades, o uso de vetores virais ou bacterianos vivos, capsídeos vazios, imunização genética, peptídeos sintéticos e antiídótipos<sup>3 24 30</sup>.

## SUMMARY

*A new, safe, highly immunogenic and probably long term effective inactivated hepatitis A virus vaccine has been licensed for clinical use. Clinical trials in developed countries have demonstrated its efficacy in preventing hepatitis A in high risk groups, such as travelers to regions where HAV infection is endemic and day care children and staff, its efficacy in postexposure conditions and in community outbreaks. The authors review the basic and changing features of the disease and its epidemiology in specific geographical regions trying to elucidate its use in the control of the disease in developing countries, especially in Brazil. Taking in consideration its efficacy, safety and immunogenicity, the inactivated hepatitis A vaccine may be of extreme value in terms of individual protection. Because this vaccine is so new, there are no formal recommendations for its use in developing countries, and appropriate public health use of hepatitis A vaccine requires up-to-date epidemiological information.*

*Key-words: Inactivated hepatitis A virus vaccine. Epidemiology. Prophylaxis. Immunization.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alter MJ, Mast EE. The epidemiology of viral hepatitis in the United States. *Gastroenterology Clinics of North America* 23: 437-455, 1994.
2. Ambrosch F, Wiedermann G, André FE, Delem A, Gregor H, Hoffmann H, DHondt E, Kundi M, Wynen J, Kunz CH. Clinical and immunological investigation of a new combined hepatitis A and B vaccine. *Journal of Medical Virology* 44: 452-456, 1994.
3. André FE. Approaches to a vaccine against Hepatitis A: Development and manufacture of an inactivated vaccine. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S33- S39, 1995.

4. Balcarek KB, Bagley MR, Pass RE, Schiff ER, Krause DS. Safety and Immunogenicity of an inactivated Hepatitis A vaccine in preschool children. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S70- S72, 1995.
5. Bensabath G, Hadler SC, Soares MCP, Fields H, Maynard JE. Características serológicas y epidemiológicas de la hepatitis virica aguda en la cuenca Amazonica del Brasil. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* 103: 351-62, 1987.
6. Bienzle U, Bock HL, Meister W, Clemens R, Kruppenbacher JP. Anti-HAV seroprevalence in german travellers and hepatitis A vaccination in immune subjects. *Lancet* 341: 1028, 1993.
7. Breese JS, Mast EE, Baron M, Schonberger LS, Yu MW, Jonas M, Coleman P, Schneider LC. Hepatitis C associated with intravenous immune globulin administration. *In: Abstracts of 35<sup>o</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy and Annual Meeting of the American Society for Microbiology* p. 269, 1995.
8. Briem H, Safary A. Immunogenicity and safety in adults of Hepatitis A virus vaccine administered as a single dose with a booster 6 months later. *Journal of Medical Virology* 44: 443-445, 1994.
9. Chávez RAR, Hidalgo AJ, Montejo JG, Hinostroza-Sjogren M. Marcadores serológicos de hepatitis viral en la region amazonica del Peru: estudio de una poblacion representativa. *Diagnostico (Peru)* 24: 5-9, 1989.
10. Clemens R, Safary A, Hepburn A, Roche C, Stanbury WJ, André FE. Clinical experience with an inactivated Hepatitis A vaccine. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S44- S49, 1995.
11. D' Hondt E, Purcell RH, Emerson SU, Wong DC, Shapiro M, Govindarajan S. Efficacy of an inactivated Hepatitis A vaccine in Pre- and Postexposure conditions in Marmosets. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S40- S43, 1995.
12. Foccacia R, Amato Neto V. Imunização contra Hepatite A e B. *Revista do Hospital das Clínicas/Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo* 43: 124-128, 1988.
13. Fujiyama S, Odoh K, Kuramoto I, Mizuno K, Tsurusaki R, Sato T. Current seroepidemiological status of Hepatitis A with a comparison of antibody titers after infection and vaccination. *Journal of Hepatology* 21: 641- 645, 1994.
14. Furesz J, Scheifele DW, Palkonyay L. Safety and effectiveness of the new inactivated Hepatitis A virus vaccine. *Canadian Medical Association Journal* 152: 343-348, 1995.
15. Gaspar AM, Vitral CL, Marchevsky RS, Yoshida CFT, Schatzmayr HG. A brazilian Hepatitis A virus isolated and adapted in primate and primate cell line as a chance for the development of a vaccine. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 87: 449-450, 1992.
16. Gerritzen A, Schneeweis KE, Brackmann HH, Oldenburg J, Hanfland P, Gerlich WH, Caspari G. Acute Hepatitis A in haemophiliacs. *Lancet*. 340:1231-1232, 1992.
17. Gust I D, Ruff TA. Hepatitis in the tropics. *Medical Journal of Australia* 159: 691- 695, 1993.
18. Hoke CHJ, Egan JE, Sjogren MH, Sanchez J, DeFraitre RE, MacArthy PO, Binn LN, Rice R, Burke A, Hill J, Kimes MH, Erikson L, Boscia J, Moonsammy GI, DHondt E, Bancroft WH. Administration of Hepatitis A vaccine to a military population by needle and Jet Injector and with Hepatitis B Vaccine. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S53-60, 1995.
19. Innis BL, Snitbhan R, Kunasol P, Laorakpongse T, Poopatanakool W, Kozik CA, Suntayakorn S, Suknuntapong T, Safary A, Tang DB, Boslego JW. Protection against Hepatitis A by an inactivated vaccine. *Journal of the American Medical Association* 271: 1328- 1334, 1994.
20. Katkov WN, Dienstag JL. Hepatitis vaccines. *Gastroenterology Clinics of North America* 24: 147-159, 1995.
21. Koff RS. Seroepidemiology of Hepatitis A in the United States. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S19-23, 1995.
22. Lemon SM. Type A viral Hepatitis- New Developments in an old disease. *New England Journal of Medicine* 313: 1059-1067, 1985.
23. Linder N, Karetnyi YV, Kuint J, Mendelson E, Dagan R. Symptomatic hepatitis A virus infection during the first year of life. *Pediatric Infectious Diseases Journal* 14: 628-629, 1995.
24. Loutan L, Bovier P, Althaus B, Glück R. Inactivated virósome Hepatitis A vaccine. *Lancet* 343: 322-324, 1994.
25. Macedo G, Cardoso T, Bernardo L, Fontes C. Purpura: an unusual presentation of HAV infection. *Journal of Clinical Gastroenterology* 18: 258-259, 1994.
26. Malbrain MLNG, Lambrecht GLY, Brans B, Lins RL, Daelemans R. Acute renal failure in non-fulminant Hepatitis A. *Clinical Nephrology* 41: 180- 181, 1994.

27. Margolis HS, Alter MJ. Will Hepatitis A become a vaccine-preventable disease?. *Annals of Internal Medicine* 122: 464-465, 1995.
28. Masada CT, Shaw BWJ, Zetterman RK, Kaufman SS, Markin RS. Fulminant hepatic failure with massive necrosis as a result of Hepatitis A infection. *Journal of Clinical Gastroenterology* 17: 158- 162, 1993.
29. Melnick JL. History and epidemiology of Hepatitis A virus. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S2-8, 1995.
30. Midthun K, Ellerbeck E, Gershman K, Calandra G, Krah D, McCaughy M, Nalin D, Provost P. Safety and immunogenicity of a live attenuated Hepatitis A vaccine in seronegative volunteers. *The Journal of Infectious Diseases* 163: 735-739, 1991.
31. Miura IK, Pugliese RPS, Pastorino AC, Koch VHK. Infecção vertical pelo vírus das hepatites A, B, não A não B e Delta- *Epidemiologia, Fisiopatologia e Profilaxia. Pediatría (São Paulo)*: 13: 85-94, 1991.
32. Oliveira LHS, Yoshida CFT, Monteiro SS, Câmara FP. Seroepidemiologic survey for hepatitis A and B markers in health care students from a public university of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista de Microbiologia/Sociedade Brasileira de Microbiologia* 22: 226-231, 1991.
33. Pannuti CS, Mendonça JS, Carvalho MJM, Oselka GW, Amato Neto V. Hepatitis A antibodies in two socioeconomically distinct populations of São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 27: 162-164, 1985.
34. Příkazsky V, Oleár V, Cernoch A, Safary A, André FE. Interruption of an outbreak of Hepatitis A in two villages by vaccination. *Journal of Medical Virology* 44: 457-459, 1994.
35. Robertson BH, D'Hondt E H, Spelbring J, Tian H, Krawczynski K, Margolis HS. Effect of postexposure vaccination in a chimpanzee model of Hepatitis A virus infection. *The Journal of Medical Virology* 43: 249- 251, 1994.
36. Rosenblum LS, Villarino ME, Nainan OV, Melish ME, Hadler SC, Pinsky PP, Jarvis WR, Ott CE, Margolis HS. Hepatitis A outbreak in a neonatal intensive care unit: Risk factors for transmission and evidence of prolonged viral excretion among preterm infants. *The Journal of Infectious Diseases* 164: 476- 482, 1991.
37. Shapiro CN, Letson GW, Kuehn D, Welty T, Krause D, Lambert S, Margolis HS. Effect of maternal antibody on immunogenicity of Hepatitis A vaccine in infants. *In: Abstracts of 35<sup>o</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*: p 190, 1995.
38. Shapiro CN, Margolis HS. Worldwide epidemiology of hepatitis A virus infection. *Journal of Hepatology* 18: S11- S14, 1993.
39. Simmons J, Stein L, Kaufman A. Pure red cell aplasia and hepatitis A. *Southern Medical Journal* 86: 1274- 1276, 1993.
40. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S9- S14, 1995.
41. Steffen R, Gyurech D. Advances in Hepatitis A prevention in travellers. *Journal of Medical Virology* 44: 460-462, 1994.
42. Steffen R. Hepatitis A in travelers: the european experience. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S24-S28, 1995.
43. Tong MJ, El-Farra NS, Grew MI. Clinical manifestations of hepatitis A: recent experience in a community teaching hospital. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S15- S18, 1995.
44. Van Damme P, Mathei C, Thoelen S, Meheus A, Safary A, André FE. Single dose inactivated Hepatitis A vaccine: rationale and clinical assessment of the safety and immunogenicity. *Journal of Medical Virology* 44: 435-441, 1994.
45. Van Damme P, Thoelen S, Cramm M, De Groote K, Safary A, Meheus A. Inactivated Hepatitis A vaccine: Reactogenicity, immunogenicity, and long-term antibody persistence. *Journal of Medical Virology* 44: 446-451, 1994.
46. Van Doorslaer E, Tormans G, van Damme P. Cost-effectiveness analysis of vaccination against Hepatitis A in travellers. *Journal of Medical Virology* 44: 463-469, 1994.
47. Vento S, Garofano T, Di Perri G, Dolci L, Concia E, Bassetti D. Identification of hepatitis A virus as a trigger for autoimmune chronic hepatitis type 1 in susceptible individuals. *Lancet* 337: 1183-1187, 1991.
48. Vilar JH, Rina T. Incidencia de hepatopatias viricas en la provincia de Corrientes en distintas poblaciones. *Acta gastroenterologica latino americana* 19: 31-34, 1989.
49. Watson JC, Fleming DW, Borella AJ, Olcott ES, Conrad RE, Baron RC. Vertical Transmission of Hepatitis A resulting in a outbreak in a neonatal Intensive Care Unit. *The Journal of Infectious Diseases* 167: 567- 571, 1993.
50. Werzberger A, Mensch B, Kuter B, Brown L, Lewis J, Sitrin R, Miller W, Shouval D, Wiens B, Calandra

- G, Ryan J, Provost P, Nalin D. A controlled trial of a formalin-inactivated hepatitis A vaccine in healthy children. *New England Journal of Medicine* 327: 453-457, 1992.
51. Wiedermann G, Ambrosch F, André FE, Delem A, DHondt E, Safary A. Thermostability of an inactivated Hepatitis A vaccine stored at 37°C for one week. *Journal of Medical Virology* 44: 442, 1994.
52. Wolfe MS. Hepatitis A and the american traveler. *The Journal of Infectious Diseases* 171: S29- S32, 1995.
53. World Health Organization. Public health control of hepatitis A: memorandum from a WHO meeting. *Bulletin of the World Health Organization* 73: 15- 20, 1995.
54. Yoshida M, Inoue K, Sekiyama K. Interferon for Hepatitis A. *Lancet* 343: 288-289, 1994.
55. Zikos D, Grewal KS, Craig K, Cheng JC, Peterson DR, Fisher KA. Nephrotic syndrome and acute renal failure associated with Hepatitis A virus infection. *American Journal of Gastroenterology* 90: 295-298, 1995.