

## Avances en vacunaciones infantiles

J. RUIZ CONTRERAS\*

Algunos acontecimientos recientes han conducido a plantearse si el calendario vacunal actual es el más idóneo. Ciertas vacunas no han impedido que aparezcan brotes de la enfermedad frente a la que están dirigidas, mientras que la introducción de otras no ha supuesto una clara disminución de la infección por el correspondiente virus salvaje como sería de esperar.

Por otra parte, cada vez se obtienen vacunas más inmunógenas y seguras que obligan a cuestionarse esquemas de vacunación que hasta ahora habían tenido una eficacia extrema.

A continuación comentaremos algunos de estos aspectos.

### VACUNACION FRENTE A LA POLIOMIELITIS

La inmunización frente a la poliomielitis ha sido objeto de revisiones recientes que plantean el dilema del uso de vacuna oral de virus vivos atenuados (VOP) *vs* vacuna parenteral de virus inactivados (VIP) (1-4).

Este hecho obedece a dos causas: 1) la mayoría de los casos de poliomielitis parálitica de los países desarrollados son producidos por el virus atenuado de la vacuna (un caso por 5-7 millones de dosis) (1,4,5); 2) en los últimos años se han logrado vacunas de poliovirus inactivados mucho más inmunógenas (1,4,6). Estas vacunas producen seroconversión en el 90 y 100% de los recepto-

res después de una y dos dosis respectivamente, superando en inmunogenicidad a las vacunas de virus vivos atenuados (4,6).

La elección es obviamente difícil, toda vez que ambas vacunas son muy eficaces y seguras. La utilización de la vacuna oral de virus atenuados ha conseguido el control de la enfermedad en muchos países. La VIP también ha sido muy eficaz consiguiendo la erradicación no sólo de la enfermedad sino del virus salvaje en Finlandia y Suecia (1).

Como ventajas principales de la VOP se han esgrimido su capacidad para inducir inmunidad intestinal y la eliminación del virus por heces contagiando -y, por tanto, inmunizando- a las personas susceptibles. La protección frente a la infección por ambos mecanismos no está, sin embargo, definitivamente probada (4).

Algunos autores proponen la utilización secuencial de una o más dosis de VIP seguidas de varias dosis de VOP. Con estas pautas disminuirían los casos de enfermedad parálitica -cuando el niño recibiera la VOP tendría anticuerpos inducidos por la VIP que limitarían la replicación y excreción de los virus atenuados- y se obtendrían las ventajas de la VOP (4).

### VACUNACION FRENTE AL SARAMPION

Desde 1976 se recomienda, en los países desarrollados, la administración

\* Departamento de Pediatría. Hospital 12 de octubre. Universidad Complutense. Madrid.  
Conferencia pronunciada en el III Memorial Profesor «Guillermo Arce».

de la vacuna del sarampión a los 15 meses de edad; antes de esta edad el niño puede tener anticuerpos transferidos desde la madre que disminuyan la eficacia de la vacuna (7).

La vacuna elaborada con la cepa Edmonston-Zagreb ofrece la posibilidad de una inmunización más precoz ya que produce una respuesta adecuada en lactantes de seis meses de edad (8-10). Podrían así evitarse muchas de los 2 millones de muertes por sarampión que ocurren, cada año, en los países subdesarrollados, donde la enfermedad tiene una alta incidencia en el primer año de vida.

Desde 1985 se han producido en Estados Unidos varios brotes de sarampión que han afectado a miles de niños (11-13) a pesar de que la enfermedad parecía controlada. Algunos de estos brotes afectaron preferentemente a niños menores de 5 años, mientras que otros lo hicieron a niños de edad escolar, de 10-19 años. Más del 60% de los niños de este segundo grupo estaba vacunado (11). El fallo de la vacuna puede haber sido por incapacidad para inducir respuesta en el receptor (*fallo primario*) o por pérdida de inmunidad vacunal a lo largo de los años (*fallo secundario*). Los fallos primarios ocurren, sobre todo, en niños vacunados antes de los 12 meses. Los fallos secundarios son muy raros (12,14), encontrándose protección, en la mayoría de las personas que han recibido la vacuna, más de 20 años después (15). Es posible, sin embargo, que los casos esporádicos de sarampión hayan contribuido a mantener unos niveles adecuados de inmunidad en las poblaciones con altas tasas de vacunación. La desaparición de estos casos originaría un descenso de protección que podría dar lugar a brotes cuando el virus salvaje se introdujera en estas poblaciones. Por otra parte, el menor título de anticuerpos de las madres vacunadas, en comparación con

las que han padecido la infección natural, aumentaría la susceptibilidad a la infección en lactantes menores de un año (16).

Por todas estas razones, se recomienda, en Estados Unidos, la administración de dos dosis de vacuna (12,13) como viene haciéndose en algunos países nórdicos desde hace años (17). La segunda dosis puede darse a los 4-6 años (12) o a los 11-12 años (13) y se administra como vacuna triple vírica, ya que se han visto casos de parotiditis en poblaciones con altas tasas de vacunación (12,13).

Se establece que para considerar a un niño inmunizado frente al sarampión debe recibir dos dosis después de los 12 meses. Si por cualquier causa recibe la primera dosis antes de esta edad, habrá que administrar dos dosis posteriormente. La primera dosis se mantiene a los 15 meses, pero se aconseja adelantarla a los 12 meses en las zonas de alto riesgo. En los brotes de grupos de edad preescolar, con afectación de niños menores de un año, se puede dar una vacuna monovalente de sarampión a los 6 meses, siguiendo después las pautas expuestas. En los brotes que ocurren en la escuela se vacunará a todos los niños que no tengan las dos dosis. En los contactos con sarampión (*profilaxis de postexposición*) los niños mayores de 1 año deben recibir la vacuna en las 72 horas siguientes al contagio; si el niño es menor de esta edad, es preferible administrar gamma-globulina revacunando 4-6 meses después (12,13).

#### VACUNACION FRENTE A VARICELA

Aunque la varicela es considerada una enfermedad benigna, lo cierto es que en pacientes inmunodeprimidos, adultos y neonatos expuestos *in útero* puede cursar como una enfermedad diseminada de elevada morbimortalidad

(18,19). En niños sanos tampoco está exenta de complicaciones, pero además supone un gasto económico importante ya que la mayoría de ellos padecerá la enfermedad (19,20).

En 1974, Takahashi y cols. publicaron su primer ensayo clínico con su vacuna de varicela de virus vivos atenuados (cepa Oka) (21). Desde entonces, la vacuna se ha estudiado intensamente, demostrándose una alta eficacia y seguridad.

Muchos pacientes inmunodeprimidos, especialmente niños con leucemia, han recibido la vacuna (22-24). La capacidad inmunizante es alta, induciendo anticuerpos en la mayoría de los niños. La eficacia protectora frente a la enfermedad, que es también muy elevada, no parece depender exclusivamente de la inmunidad humoral ya que las personas en las que se negativizan los anticuerpos pueden estar protegidos (22,23). Cuando los niños vacunados adquieren la enfermedad es, casi siempre, leve. Las reacciones más frecuentes son fiebre moderada y exantema con pocas lesiones (22-24).

En niños sanos, la inmunogenicidad es todavía mayor, desarrollando una respuesta específica, humoral y celular, el 95-100% de los receptores. Su eficacia protectora es muy alta y los efectos secundarios carecen de relevancia (5-10% de los niños tienen exantema maculopapulosos y vesiculosos y fiebre baja) (22,25-28).

Una preocupación constante ha sido la posibilidad de que el virus pudiera quedar en estado latente, produciendo reactivaciones posteriores (herpes zóster), pero la experiencia ha demostrado que esta complicación es menos frecuente que tras la infección natural, tanto en pacientes inmunodeprimidos (22,29) como sanos (25,30).

En resumen, estamos ante una vacuna cuya eficacia y seguridad están avala-

das por numerosos estudios. En los pacientes inmunodeprimidos debiera evitar las graves complicaciones que pueden seguir a la varicela y en los niños sanos el costo económico de una enfermedad que afectará a la gran mayoría de ellos.

Los niños inmunodeprimidos deben recibir la vacuna durante la fase de remisión de su enfermedad, suspendiendo la quimioterapia una semana antes y una después de la administración de la vacuna, aunque varios autores mantienen la 6-mercaptopurina sin que aumenten significativamente los efectos secundarios o disminuya la capacidad inmunógena de la vacuna (22,24). Los pacientes que no tengan seroconversión pueden recibir una segunda dosis. Como quiera que la inmunidad en los niños con quimioterapia disminuye más rápidamente, se recomienda una segunda dosis como refuerzo. El momento de administración de esta segunda dosis podría ser, como en otras vacunas de virus vivos, tres meses después de finalizado el tratamiento inmunosupresor.

No parecen existir razones de peso para retrasar más la administración de la vacuna VZ a todos los niños. Lo más adecuado podría ser administrarla incorporada a la triple vírica, como una vacuna tetravalente, a los 15 meses de edad, ya que no se afecta la inmunogenicidad de los distintos componentes ni aumenta la incidencia de efectos secundarios (26,28,31).

#### VACUNACION FRENTE A HAEMOPHILUS INFLUENZAE

En el año 1987, se aprobó en Estados Unidos la primera vacuna frente a *Haemophilus influenzae* tipo b, compuesta del polisacárido capsular (polirribosa fosfato o PRP) del germen. Como todos los polisacáridos esta vacuna induce una

respuesta inmunitaria T-independiente lo que supone dos inconvenientes: 1) no se forman células de la memoria y no se produce, por tanto, una respuesta inmunitaria secundaria (aumento rápido e intenso de IgG) al administrar dosis de recuerdo; y 2) es poco inmunógena en los niños menores de dos años que son, precisamente, los que más riesgo tienen de padecer enfermedad invasiva por *H. influenzae* tipo b (32).

Posteriormente se han desarrollado *vacunas conjugadas* uniendo covalentemente una proteína (toxoides diftérico, toxoide tetánico, complejo proteico de la membrana externa meningocócica y la toxina diftérica mutante no patógena llamada CRM<sub>197</sub> con el polisacárido u oligosacáridos capsulares del *H. influenzae* tipo b. La conjugación con la proteína condiciona que la vacuna se comporte como un antígeno proteico (T-dependiente) con mejor inmunogenicidad y producción de células de la memoria capaces de dar lugar a un aumento rápido e intenso de anticuerpos IgG1 al administrar una dosis de recuerdo (32-36).

La administración de dos dosis de *vacuna conjugada* a lactantes menores de 6 meses de edad produce unos niveles protectores de anticuerpos en más del 80% de los niños. Con tres dosis responden virtualmente todos ellos, multiplicándose además el título de anticuerpos con cada una de ellas (36-37). La duración de los niveles apropiados parece ser duradera (36,37) y la eficacia protectora es muy alta aunque no parece depender exclusivamente de los anticuerpos. Los efectos secundarios son irrelevantes, limitándose a febrícula o fiebre moderada y reacciones locales leves (32,34-37).

Desde 1988 hay tres vacunas conjugadas aprobadas en Estados Unidos (5,32,35). Se recomienda su administración a los 18 meses de edad, aunque es

posible que, con las nuevas vacunas, pueda realizarse en edades más precoces.

En nuestro país, donde la incidencia de enfermedad invasiva por *H. influenzae* parece aumentar, debe plantearse la administración de esta vacuna como parte del calendario vacunal normal. En los niños con infección sintomática por VIH, la administración debe ser obligada, toda vez que tienen un riesgo muy elevado de padecer infecciones graves por gérmenes capsulados (5). Los pacientes con leucemia tienen también un riesgo aumentado de enfermedad por *H. influenzae*. Aunque sólo el 50% responden a estas vacunas y los niveles de anticuerpos son menores que los de los niños sanos no hay razón para privar de los posibles beneficios de la vacunación a este grupo (38).

#### INMUNIZACION FRENTE A LA HEPATITIS A Y B

Aunque la hepatitis A es una enfermedad habitualmente benigna que no produce enfermedad hepática crónica, en una proporción no despreciable de adultos puede llevar un curso prolongado. Además, ocasionalmente, puede producir una hepatitis fulminante.

La elaboración de vacunas frente a esta infección no ha sido posible hasta muy recientemente por la imposibilidad de cultivar el virus. Hace poco más de un año se han obtenido dos vacunas frente a la hepatitis A (39). Una de ellas está compuesta de virus inactivados (40,41) y la otra de virus vivos atenuados por varios países en cultivos celulares (42). Ambas son inmunógenas en prácticamente todas las personas que la reciben y muy seguras, no habiéndose demostrado alteraciones hepáticas en los sujetos vacunados. La vacuna de virus atenuados se administra por vía subcutánea en una sola dosis (42). La vacuna de

virus muertos contiene hidróxido de aluminio por lo que debe administrarse por vía intramuscular. La inmunización se realiza con tres dosis separadas por un intervalo de 1 mes cada una de ellas (0, 4 y 8 semanas) (40,41). La administración conjunta con la vacuna recombinante de la hepatitis B no causa interferencia entre ambas (41).

El progreso en la inmunización frente a la hepatitis B ha sido rápido. En 1981 se consiguió la primera vacuna compuesta de Ag-HBs purificado e inactivado obtenido del plasma de sujetos portadores crónicos. En 1984, se obtuvo la vacuna recombinante por ingeniería genética con la consiguiente mayor disponibilidad. Pese a estos logros, la incidencia de la enfermedad no ha disminuido notablemente, quizás, como se ha señalado, por falta de cumplimiento de los programas de vacunación en los grupos considerados de riesgo (43). La vacunación universal, incorporando esta vacuna al calendario vacunal normal, en las zonas o países endémicos podría ayudar al control de esta infección (43). La pauta de inmunización más difundida de la hepatitis B consiste en administrar tres dosis los meses 0, 1 y 6. Este esquema puede no ser el óptimo, ya que se ha demostrado que un alargamiento del intervalo entre la 2ª y la 3ª dosis (pauta de 0, 1 y 12 meses) triplica los títulos de anti-HBs (44).

En el sur de Italia, se han detectado algunos sujetos en contacto con hepatitis B que han sufrido la infección por el

virus a pesar de tener títulos adecuados de anti-HBs, inducidos por la vacuna. El fenómeno parece ser debido a una mutación puntual, probablemente inducida por la presión selectiva de la vacuna, de una sola base del DNA viral que condiciona el cambio de un aminoácido en el determinante antigénico a del Ag-HBs. Este determinante, frente al cual se dirige una gran parte de la inmunidad de la vacuna, no sería reconocido por los anti-HBs posibilitando la infección (45).

#### VACUNACION FRENTE AL VIH1

La vacuna frente al VIH1 supone uno de los retos más importantes de este siglo. El problema más difícil de resolver se deriva de la gran variación antigénica del virus, especialmente en las proteínas de la envoltura, que pueden cambiar incluso en los aislados obtenidos en un mismo individuo.

Otro problema a resolver es el tipo de vacuna ideal. Indudablemente una vacuna de virus atenuados no parece deseable en esta enfermedad por la posibilidad de que el virus de la vacuna revierta al estado salvaje. Quedan, por tanto, las vacunas de virus muertos y especialmente las vacunas recombinantes, pero la elaboración de estas últimas pasa por identificar las regiones de la envoltura viral que, siendo suficientemente inmunógenas, estén altamente conservadas (46).

#### BIBLIOGRAFIA

1. BEALE, A.J.: *Modern Vaccines. Polio Vaccines: time for a change in immunization policy?*. Lancet 1990; 335: 839-842.
2. SABIN, A.B.: *Commentary: is there a need for a change in poliomyelitis immunization policy?* Pediatr. Infect. Dis. J. 1987; 6: 887-889.
3. SALK, J.: *Commentary: Poliomyelitis vaccination-choosing a wise policy*. Pediatr. Infect. Dis. J. 1987; 6: 889-893.
4. McBEAN, M.A.; MODLIN, J.F.: *Rationale for the sequential use of inactivated poliovirus vaccine and live attenuated poliovirus vaccine for*

- routine poliomyelitis immunization in the United States.* *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1987; 6: 881-887.
5. Committee on Infectious Diseases. American Academy of Pediatrics: *Report of the Committee on Infectious Diseases*. Twenty-first Edition. Elk Grove Village, Illinois, 1988.
  6. BERNIER, R.H.: *Improved inactivated poliovirus vaccine: an update.* *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1986; 5: 289-292.
  7. ISAACS, D., MENSER, M.: *Modern vaccines. Measles, mumps, rubella and varicella.* *Lancet* 1990; 335: 1384-1387.
  8. MARKOWITZ, L.E.; BERNIER, R.H.: *Immunization of young infants with Edmonston-Zagreb measles vaccine.* *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1987; 6: 809-812.
  9. WHITTLE, H.; HANLON, P.; O'NEILL, K.; et al.: *Trial of high dose Edmonston-Zagreb measles vaccine in the Gambia: antibody response and side-effects.* *Lancet* 1988; 2: 811-814.
  10. MARKOWITZ, L.E.; SEPULVEDA, J.; DIAZ-ORTEGA, J.L.; et al.: *Immunization of six-month-old infants with different doses of Edmonston-Zagreb and Schwarz vaccines.* *N. Engl. J. Med.* 1990; 322: 580-587.
  11. MARKOWITZ, L.E.; PREBLUD, S.R.; ORENSTEIN, W.A.; et al.: *Patterns of transmission in measles outbreaks in the United States, 1985-1986.* *N. Engl. J. Med.* 1989; 320: 75-81.
  12. ACIP. *Measles prevention.* *MMWR* 1989; 38 (S-9): 1-18.
  13. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. *Measles: Reassessment of the Current Immunization Policy.* *Pediatrics* 1989; 84: 1110-1113.
  14. MARKOWITZ, L.E.; PREBLUD, S.R.; FINE, P.E.; ORENSTEIN, M.D.: *Duration of live measles vaccine-induced immunity.* *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1990; 9: 101-110.
  15. MILLER, C.: *Live measles vaccine: a 21 year follow up.* *Br Med J* 1987; 295: 22-24.
  16. LENNON, J.L.; BLACK, F.L.: *Maternally derived measles immunity in era of vaccine-protected mothers.* *J. Pediatr.* 1986; 108 (1): 671-676.
  17. HINMAN, A.R.; ORENSTEIN, W.A.: *Modern vaccines. Immunisation practice in developed countries.* *Lancet* 1990; 335: 707-710.
  18. FELDMAN, S., LOTT, L.: *Varicella in children with cancer: impact of antiviral therapy and prophylaxis.* *Pediatrics* 1987; 80: 465-472.
  19. PREBLUD, S.R.: *Varicella: Complications and Costs.* *Pediatrics* 1986; 78 (suppl.): 728-735.
  20. GUESS, H.A.; BROUGHTON, D.D.; MELTON, L.J.; KURLAND, L.T.: *Population-Based Studies of Varicella Complications.* *Pediatrics* 1986; 78 (suppl): 723-727.
  21. TAKAHASHI, M.; OTSUKO, T.; OKUNO, Y.; et al.: *Live vaccine used to prevent the spread of varicella in children in hospital.* *Lancet* 1974; 2: 1288-1290.
  22. TAKAHASHI, M.: *Clinical Overview of varicella Vaccine: Development and Early Studies.* *Pediatrics* 1986; 78 (suppl): 736-741.
  23. GERSHON, A.; STEINBERG, S.P.; and The Varicella Vaccine Collaborative Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Disease. *Persistence of immunity to varicella in children with leukemia immunized with live attenuated varicella vaccine.* *N. Engl. J. Med.* 1989; 320: 892-7.
  24. ARBETER, A.M.; GRANOWETTER, L.; STARR, S.E.; LANGE, B.; WIMMER, R.; PLOTKIN, S.A.: *Immunization of Children with Acute Lymphoblastic Leukemia with Live Attenuated Varicella Vaccine Without Complete Suspension of Chemotherapy.* *Pediatrics* 1990; 85: 338-344.
  25. ARBETER, A.M.; STARR, S.E.; PLOTKIN, S.A.: *Varicella Vaccine Studies in Healthy Children and Adults.* *Pediatrics* 1986; 78 (suppl): 748-756.
  26. ARBETER, A.M.; BAKER, L.; STARR, S.E.; LEVINE, B.L.; BOOKS, E.; PLOTKIN, S.A.: *Combination Measles, Mumps, Rubella, and Varicella Vaccine.* *Pediatrics* 1986; 78 (suppl): 742-747.
  27. JOHNSON, C.E.; SHURIN, P.A.; FATTLAR, D.; ROME, L.P.; KUMAR, L.M.: *Live Attenuated Varicella Vaccine in Healthy 12-to-24 Month-Old Children.* *Pediatrics* 1988; 81: 512-518.
  28. BRUNELL, P.A.; NOVELLI, V.M.; LIPTON, S.V.; POLLOCK, B.: *Combined Vaccine Against Measles, Mumps, Rubella and Varicella.* *Pediatrics* 1988; 81: 779-784.
  29. LAWRENCE, R.; GERSHON, A.A.; HOLZMAN, R.; STEINBERG, S.P.; and The Niaid Varicella Vaccine Collaborative Study Group.: *The risk of zoster after varicella vaccination in children with leukemia.* *N. Engl. J. Med.* 1988; 318: 543-548.
  30. PLOTKIN, S.A.; SATRR, S.E.; CONNER, K.; et al.: *Zoster in normal children after varicella vaccine.* *J. Infect. Dis.* 1989; 159: 1000.
  31. ENGLUND, J.A.; SUAREZ, C.S.; KELLY, J.; TATE, D.Y.; BALFOUR, H.H.: *Placebo-controlled trial of varicella vaccine given with or after measles-mumps-rubella vaccine.* *J. Pediatr.* 1989; 114: 37-44.
  32. WEINBERG, G.A.; GRANOFF, D.M.: *Polysaccharide-protein conjugate vaccines for the prevention of Haemophilus influenzae type b disease.* *J. Pediatr.* 1988; 113: 621-631.
  33. ROBBINS, J.B.; SCHNEERSON.: *Polysaccharide-protein conjugates: a new generations of vaccines.* *J. Infect. Dis.* 1990; 161: 821-832.

34. BERKOWITZ, C.D.; WARD, J.I.; CHIU, C.E.; et al.: *Persistence of antibody and booster responses to reinmunization with Haemophilus influenzae type b polysaccharide and polysaccharide diphteria toxoid conjugate vaccines in children initially immunized at 15 to 24 months of age.* Pediatrics 1990; 85: 288-293.
35. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases.: *Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines: update.* Pediatrics 1989; 84: 386-387.
36. KAYHTY, H.; PELTOLA, H.; ESKOLA, J.; et al.: *Immunogenicity of Haemophilus influenzae oligosaccharide-protein and polysaccharide-protein conjugate vaccination of children at 4, 6 and 14 months of age.* Pediatrics 1989; 84: 995-999.
37. MADORE, D.V.; JOHNSON, C.L.; PHIPPS, D.C.; et al.: *Safety and immunologic response to Haemophilus influenzae type b oligosaccharide-CRM<sub>197</sub> conjugate vaccine in 1-10-6 month-old infants.* Pediatrics 1990; 85: 331-337.
38. FELDMAN, S.; GIGLIOTTI, F.; SHENEP, J.L.; ROBERSON, P.K.; LOTT, L.: *Risk of Haemophilus influenzae type b disease in children with cancer and response of immunocompromised leukemic children to a conjugate vaccine.* J. Infect. Dis. 1990; 161: 926-931.
39. ZUCKERMAN, A.J.: *Currents developments and issues in immunization against hepatitis A y B.* Cur. Op. Infect. Dis. 1989; 2: 760-764.
40. FLEHMIG, B.; HEINRICY, U.; PFISTERER, M.: *Immunogenicity of a killed hepatitis A vaccine in seronegative human volunteers.* Lancet 1989; 1: 1039-1041.
41. FLEHMIG, B.; HEINRICY, U.; PFISTERER, M.: *Simultaneous vaccination for hepatitis A and B.* J Infect. Dis. 1990; 161: 865-868.
42. MAO, J.S.; DONG, D.X.; ZHANG, H.Y.; et al.: *Primary study of attenuated live hepatitis A vaccine (H2 strain) in humans.* J. Infect. Dis. 1989; 159: 621-624.
43. HOOFNAGLE, J.H.: *Toward universal vaccination against hepatitis B virus.* N. Engl. J. Med. 1989; 19: 1333-1334
44. JILG, W.; SCHMIDT, M.; DEINHARDT, F.: *Vaccination against hepatitis B: comparison of three different vaccination schedules.* J. Infect. Dis. 1989; 160: 766-769.
45. CARMAN, W.J.; ZANETTI, A.R.; KARAYIANNIS, P.; et al.: *Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus.* Lancet 1990; 336: 325-329.
46. SCHILD, G.C.; MINOR, P.D.: *Human immunodeficiency virus and AIDS: challenges and progress.* Lancet 1990; 335: 1081-1084.