

**Adriana Coracini Tonacio de Proença**

**Avaliação da imunogenicidade e segurança da vacina fracionada contra febre amarela em pacientes com doenças reumáticas autoimunes com baixo nível de imunossupressão**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Doutora em Ciências

Programa: Ciências do Sistema Músculo-esquelético

Orientadora: Profa. Dra Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfa

**São Paulo**

**2022**

**Adriana Coracini Tonacio de Proença**

**Avaliação da imunogenicidade e segurança da vacina fracionada contra febre amarela em pacientes com doenças reumáticas autoimunes com baixo nível de imunossupressão**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Doutora em Ciências

Programa: Ciências do Sistema Músculo-esquelético

Orientadora: Profa. Dra Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfa

**São Paulo**

**2022**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Tonacio de Proença, Adriana Coracini  
Avaliação da imunogenicidade e segurança da vacina  
fracionada contra febre amarela em pacientes com  
doenças reumáticas autoimunes com baixo nível de  
imunossupressão / Adriana Coracini Tonacio de  
Proença. -- São Paulo, 2022.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências do Sistema  
Musculoesquelético.

Orientadora: Eloisa Silva Dutra de Oliveira  
Bonfa.

Descritores: 1.Vacina contra febre amarela  
2.Doenças reumáticas 3.Febre amarela  
4.Imunossupressão 5.Uso off-label 6.Lúpus  
eritematoso sistêmico

USP/FM/DBD-123/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

## **DEDICATÓRIA**

**À minha família, com muito amor e gratidão pela compreensão e apoio incondicional ao longo desses anos de muito trabalho, estudo e momentos de renúncia em que estivemos separados fisicamente, mas que nunca deixei se sentir vocês por perto.**

**Pai, Mãe e Gordo**

**Rafa, Madá e Samuca**

**Dedico a vocês esse trabalho.**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos pacientes e funcionários do Hospital das Clínicas FMUSP, sem os quais esse trabalho não seria possível.

Ao Prof Dr. Esper G Kallás, que muito vem me ensinando ao longo de todos esses anos de convivência e que sempre me incentivou, me apoiou e muito me ajudou no desenvolvimento desse trabalho e da vida.

À minha orientadora, Prof. Dra. Eloisa Bonfá, exemplo de mulher forte, inteligente, líder, que foi responsável por tornar possível e viável uma idéia virar este trabalho.

À Pós doutoranda Tatiana Pedrosa e Dra. Nadia Aikawa que foram meus braços direito e esquerdo na organização e condução desse trabalho. Duas pessoas fantásticas com quem tive o privilégio de trabalhar e aprender.

À toda equipe médica e funcionários do Ambulatório da Reumatologia HCFMUSP, pessoas dedicadas que se empenharam no recrutamento e avaliações periódicas dos pacientes durante o curso deste trabalho, sem os quais este também não seria possível.

Aos meus colegas de profissão e, acima de tudo, amigos, que estão sempre comigo e que dispensam mais descrição além da palavra amigo, cujo significado é tão importante para mim: Ana Catharina e Hermes.

À Divisão de Moléstias Infecciosas e Parasitárias nas pessoas do diretor e amigo Dr. Marcello Magri e da Prof. Dra. Anna Sara Levin e ao Departamento de Moléstias infecciosas e Parasitárias, especialmente Dra. Silvia F. Costa, pelo apoio irrestrito e concessão dos períodos necessários à realização deste trabalho.

Aos colegas infectologistas da querida equipe: os Camilococcus, que são companheiros de trabalho e de vida, compreenderam minhas ausências, às vezes necessárias, para que esse trabalho fosse concluído: Ursula, Laís, Laína, Luciana, Larissa, Oscar, Gabriel, Gloria, Mariane, Julia, Matheus e Alessandra.

À Equipe EGK, que me acolheu há tantos anos, me fez crescer como profissional e sempre me ajudou e compreendeu quando precisei ajustar horários e estar ausente para a realização deste doutorado.

## RESUMO

Tonacio de Proença, AC. *Avaliação da imunogenicidade e segurança da vacina fracionada contra febre amarela em pacientes com doenças reumáticas autoimunes com baixo nível de imunossupressão* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022

O Brasil enfrentou uma epidemia de febre amarela (FA) no período de 2016 a 2018 e a vacinação passou a ser considerada para pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) com baixa imunossupressão em razão da alta mortalidade desta infecção. Objetivo: Avaliar de forma prospectiva a imunogenicidade em 30 dias e segurança da vacina de febre amarela (VFA) fracionada em pacientes com DRAI em uso de baixa imunossupressão. Métodos e Resultados: Um total de 318 participantes (159 DRAI e 159 controles saudáveis pareados por idade e sexo) foram vacinados com a dose fracionada (um quinto) da VFA 17DD. Todos os participantes foram avaliados no dia da vacinação (D0), e nos dias D5, D10, D30 após a mesma para parâmetros clínicos, incluindo avaliação com escores de atividade das respectivas doença reumática, e parâmetros laboratoriais. As taxas de soroconversão 30 dias após a vacinação (83.7%vs.96.6%,  $p=0.0006$ ) e a média geométrica dos títulos de anticorpos neutralizantes (GMT) [1143.7 (95%CI 1012.3-1292.2) vs.731( 95%CI 593.6-900.2),  $p<0.001$ ] foram menores no grupo DRAI comparados aos controles. Uma menor ocorrência de viremia vacinal foi detectada também entre os pacientes com DRAI se comparados aos controles no D5 (53%vs.70%,  $p=0.005$ ) e, no D10, a frequência de positividade de viremia vacinal se manteve para pacientes enquanto declinou entre os controles (51%vs.19%,  $p=0.0001$ ). A presença de viremia vacinal foi a única variável independentemente associada a soroconversão entre os pacientes e a quimiocina CCL20 esteve inversamente associada a soroconversão da casuística total. Nenhum evento adverso grave foi relatado. A atividade de doença se manteve estável na avaliação pelos escores de atividade no D0 e D30 ( $p>0.05$ ). Conclusão: A dose fracionada da VFA-17DD nos pacientes com DRAI resultou em alta taxa de soroconversão (>80%), no entanto mais baixa que nos controles. A viremia vacinal foi mais prolongada, porém menos intensa entre pacientes DRAI se comparados aos controles. A vacina foi imunogênica, segura e não desencadeou reativação de doença reumática nos pacientes em uso de baixa imunossupressão e pode ser indicada para situações epidêmicas ou pacientes que vivem ou trabalham em áreas endêmicas (ClinicalTrials.gov, NCT03430388).

**Descritores:** Vacina contra febre amarela; Doenças reumáticas; Febre amarela; Imunossupressão; Uso off-label; Lúpus eritematoso sistêmico.

## ABSTRACT

Tonacio de Proença AC. *Immunogenicity and safety of primary fractional-dose yellow fever vaccine in autoimmune rheumatic disease patients with low level of immunosuppression* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2022.

Background: Brazil faced a yellow fever (YF) outbreak in 2016-2018 and vaccination was considered for autoimmune rheumatic disease patients (ARD) with low immunosuppression due to YF high mortality. Objective: This study aimed to evaluate, prospectively for the first time, the short-term immunogenicity of the fractional YF vaccine (YFV) immunization in ARD patients with low immunosuppression. Methodology and principal findings: A total of 318 participants (159 ARD and 159 age- and sex-matched healthy controls) were vaccinated with the fractional-dose (one fifth) of 17DD-YFV. All subjects were evaluated at entry (D0), D5, D10, and D30 post-vaccination for clinical/laboratory and disease activity parameters for ARD patients. Post-vaccination seroconversion rate (83.7%vs.96.6%,  $p=0.0006$ ) and geometric mean titers (GMT) of neutralizing antibodies [1143.7 (95%CI 1012.3-1292.2) vs.731(95%CI 593.6-900.2),  $p<0.001$ ] were significantly lower in ARD compared to controls. A lower positivity rate of viremia was also identified for ARD patients compared to controls at D5 (53%vs.70%,  $p=0.005$ ) and the levels persisted in D10 for patients and reduced for controls (51%vs.19%,  $p=0.0001$ ). The viremia was the only variable associated with seroconversion in ARD patients and the chemokine CCL20 was inversely associated with seroconversion in whole sample. No serious adverse events were reported. ARD disease activity parameters remained stable at D30 ( $p>0.05$ ). Conclusion: Fractional-dose 17DD-YF vaccine in ARD patients resulted in a high rate of seroconversion rate (>80%) but lower than controls, with a longer but less intense viremia. This vaccine was immunogenic, safe and did not induce flares in ARD under low immunosuppression and may be indicated in YF outbreak situations and for patients who live or travel to endemic areas. (ClinicalTrials.gov, NCT03430388).

**Descriptors:** Yellow fever vaccine; Rheumatic diseases; Yellow fever; Immunosuppression; Off-label use; Lupus erythematosus systemic.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fluxograma de Inclusão e seguimento de pacientes com DRAI e controles para avaliação de imunogenicidade da VFA em dose fracionada.....28
- Figura 2.** Viremia dos pacientes com doença reumática autoimune (DRAI) e controles saudáveis (CS) em dois momentos: D5 e D10.....32
- Figura 3.** Distribuição dos padrões de cinética viral apresentados por pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles saudáveis (CS).....33
- Figura 4.** Cinética viral de cada indivíduo (DRAI e CS) nos momentos de avaliação D5 e D10.....33
- Figura 5.** Pico de viremia em pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles saudáveis (CS) vacinados com VFA fracionada com e sem soroconversão.....37
- Figura 6.** Cinética de linfócitos e neutrófilos de pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles saudáveis (CS) vacinados com VFA fracionada.....44
- Figura 7.** Cinética de linfócitos e neutrófilos de pacientes com DRAI vacinados com VFA fracionada, comparando-se pacientes neutropênicos vs. não-neutropênicos e linfopênicos vs. não-linfopênicos.....45
- Figura 8.** Achados laboratoriais dos pacientes com DRAI e controles saudáveis vacinados com VFA fracionada.....46

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Medicamentos considerados baixo grau de imunossupressão.....	21
<b>Quadro 2.</b> Biológicos e intervalos de descontinuidade para utilização de vacinas vivas atenuadas.....	21
<b>Quadro 3.</b> Exames coletados em cada um dos momentos de avaliação D0, D5, D10, D30-45.....	24
<b>Quadro 4.</b> Exames específicos solicitados de acordo com a doença reumática de base nos tempos de avaliação de atividade de doença: D0, D30-45.....	25
<b>Quadro 5.</b> Sequência de primers YFV(1) e vírus da Poliomielite.....	26

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características basais de 159 pacientes com doenças reumáticas (DRAI) e 159 controles saudáveis (CS).....	29
<b>Tabela 2.</b> Distribuição das doenças reumáticas entre os 159 pacientes.....	30
<b>Tabela 3.</b> Drogas Imunossupressoras e imunomoduladoras em uso pelos 159 pacientes com doenças reumáticas.....	31
<b>Tabela 4.</b> Imunogenicidade da dose fracionada da Vacina de Febre Amarela (VFA) nos pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles sadios (CS).....	35
<b>Tabela 5.</b> Análise dos fatores associados a soroconversão 30 dias após a dose fracionada de vacina de febre amarela em pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI).....	38
<b>Tabela 6.</b> Análise bi e multivariada do nível sérico <u>basal</u> (D0) de vinte e cinco citocinas nos indivíduos (DRAI+CS) para predição de soropositividade em D30.....	40
<b>Tabela 7.</b> Eventos locais e sistêmicos após uso da vacina da febre amarela YFV em pacientes com doença autoimune reumáticas (DRAI) e controles saudáveis (CS).....	41
<b>Tabela 8.</b> Índices de atividade de doença padronizados e específicos para cada doença reumática, aferidos antes e 30 dias após a vacina de febre amarela 17DD fracionada.....	42

## LISTA DE APÊNDICES

<b>Apêndice A</b> – Modelo de Ficha de Entrevista (Ex. Controles).....	59
<b>Apêndice B</b> - Diário de Sintomas.....	63
<b>Apêndice C</b> - TCLE Controle Saudável.....	64
<b>Apêndice D</b> – TCLE Paciente.....	68

## SUMÁRIO

Resumo  
Abstract  
Lista de Figuras  
Lista de Quadros  
Lista de Tabelas  
Lista de Apêndices

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>1.1 Febre Amarela no Brasil e a necessidade de vacinação</b> .....	14
<b>1.2 A Vacina de Febre Amarela convencional e fracionada</b> .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	19
3.1 Desenho do estudo .....	19
3.2 População estudada .....	19
<b>3.2.1 Critérios de inclusão:</b> .....	19
<b>3.2.3 Critérios de exclusão para pacientes e controles:</b> .....	22
<b>3.2.4 Cálculo Amostral:</b> .....	22
3.3 Vacina .....	23
3.4 Avaliação clínica, de segurança e vigilância de eventos adversos graves .....	23
<b>3.4.1 Avaliação da Atividade de Doença Reumática</b> .....	24
<b>3.3.2 Avaliação laboratorial</b> .....	24
3.4 Mensuração da viremia do vírus vacinal da febre amarela .....	25
3.5 Avaliação de imunogenicidade pela titulação de anticorpos neutralizantes pelo método de micro-prnt <sub>50</sub> : .....	26
3.6 Dosagem do nível sérico de citocinas .....	27
3.7 Análise estatística .....	27
<b>4. RESULTADOS</b> .....	28
4.1 População estudada .....	28
4.2 Viremia Vacinal .....	32
4.3 Imunogenicidade da dose fracionada da vacina 17DD-YF .....	34
4.4 Avaliação do nível sérico basal (D0) de vinte e cinco citocinas em pacientes com doenças reumáticas autoimunes e controles sadios. ....	39
4.4 Avaliação de Eventos adversos .....	41
<b>4.4.1 Sinais e Sintomas Locais e Sistêmicos</b> .....	41
<b>4.4.2 Parâmetros de Atividade de DRAI</b> .....	42
4.5 Achados laboratoriais gerais .....	43
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	48

<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	53
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	53

## 1. INTRODUÇÃO

Pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI), como artrite reumatoide, espondilite anquilosante(EA), artrite psoriásica (AP), artrite idiopática juvenil (AIj), dermatomiosite adulto (DM), poliomiosite (PM), dermatomiosite juvenil (DMj), esclerose sistêmica (ES), doença mista do tecido conectivo (DMTC) , lúpus eritematoso sistêmico (LES), vasculites sistêmicas, síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAF), doença de Behçet, síndrome de Sjögren primária (SSp), são particularmente suscetíveis a infecções, como consequência não só da imunossupressão gerada pela própria doença como também induzidas pelas terapias imunossupressoras.

A Disciplina de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) acompanha cerca de 2.500 pacientes, sendo um centro formador e de referência no atendimento terciário desta especialidade clínica. Faz parte da atenção em saúde prestada a essa população estabelecer estratégias de prevenção dos processos infecciosos, para os quais têm risco aumentado e/ou maior morbimortalidade associada.

A vacinação consiste em um método eficaz e seguro para o controle das doenças imunopreveníveis na população geral e deve ser utilizada, sempre que possível, nos pacientes imunossuprimidos com doenças reumáticas. Portanto, é uma das principais ferramentas utilizadas para reduzir a morbimortalidade associada a infecções virais e bacterianas nessa população. Faz-se necessário identificar as suas particularidades no que diz respeito à definição dos grupos com maior benefício de cada vacina, comprovação da eficácia desta estratégia, uma vez que a imunogenicidade pode diferir da população em geral, bem como a segurança da sua administração em pacientes imunossuprimidos, particularmente aquelas compostas de vírus vivos atenuados.

Habitualmente, as vacinas compostas por vírus vivos atenuados não são recomendadas para pacientes com DRAI, muitas vezes independentemente do uso de imunossupressores, enquanto a imunização com agentes inativados é fortemente indicada resultando em imunogenicidade e segurança vacinal adequadas, sem efeitos deletérios relevantes no controle das suas doenças de base, como tem sido

evidenciado em crianças, adolescentes e adultos com doenças reumáticas crônicas(2–5).

### **1.1 Febre Amarela no Brasil e a necessidade de vacinação**

A Febre Amarela (FA) é uma arbovirose causada por vírus RNA do gênero Flavivírus presente em países das Américas e África. O ciclo de transmissão da FA compreende as formas silvestre e urbana. Na forma silvestre, os primatas não humanos são os principais hospedeiros, o homem é afetado como hospedeiro acidental, e os vetores são das espécies *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus*, *Sabethes chloropterus* e *Sabethes albiprivus*. Na forma urbana, o homem é o principal hospedeiro e o vetor passa a ser o *Aedes aegypti*. Constitui-se em uma doença febril aguda, com amplo espectro de apresentação clínica variando de formas assintomáticas e oligosintomáticas até formas hemorrágicas graves com insuficiência hepática e renal, com letalidade média de 38.4% no Brasil no período de 1980 a Maio de 2018(6–8).

Desde 1942 não houve relato de casos da forma urbana no Brasil e a vacinação se tornou recomendação permanente aos habitantes das regiões do país consideradas endêmicas para a FA silvestre. No entanto, o risco de reurbanização da doença é tema de preocupação frequente, frente à ocorrência de casos em áreas próximas aos centros urbanos e capitais que concentram a maior parte da população até então não vacinada do país(9,10) .

Surtos de epizootia são relatados a cada 7 a 9 anos na população de primatas não humanos, com risco de contaminação de populações humanas suscetíveis presentes nas regiões próximas às áreas de mata. A epizootia é monitorada em todo país e permite a projeção dos corredores ecológicos de disseminação do vírus e consequente estabelecimento das estratégias de vacinação caso contemplem regiões sem a prévia circulação do vírus(11).

Desde o ressurgimento do vírus da febre amarela na região Centro-Oeste em 2014, houve sua disseminação progressiva pelo território brasileiro, atingindo áreas com baixas coberturas vacinais e onde a vacinação não era parte do calendário recomendado de rotina. A partir da descrição do ciclo de transmissão silvestre da febre amarela na década de 1930, os maiores surtos da história desta doença no Brasil, ocorreram nos anos de 2016/2017 e 2017/2018, quando foram registrados

cerca de 2,1 mil casos e mais de 700 óbitos pela doença. Durante o monitoramento de 2018/2019, a chegada do vírus ao Vale do Ribeira/SP facilitou sua entrada no Paraná (janeiro/2019) e em Santa Catarina (março/2019) pelo litoral, onde produziu surtos de menor magnitude quando comparados àqueles dos anos anteriores. No entanto, essas áreas não registravam a circulação do vírus há décadas, de modo que a recomendação de vacinação para essas populações havia sido recentemente adotada(11).

No ano de 2016, os órgãos de vigilância epidemiológica do país identificaram circulação viral através da identificação de epizootia nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo com previsão de deslocamento do vírus para os estados de São Paulo e Rio de Janeiro. Dessa maneira, a área de vacinação foi sendo ampliada de forma dinâmica conforme ocorria a confirmação das previsões geradas(6,12).

No ano de 2018, ocorreu um aumento expressivo de FA nas áreas metropolitanas fronteiriças com as regiões de mata na própria cidade de São Paulo e a OMS definiu o Estado de São Paulo como área de risco. Diante desse quadro, houve uma campanha de vacinação em massa na cidade. No entanto, para pacientes imunossuprimidos existia ainda uma recomendação formal de não se utilizar vacinas de vírus vivo atenuado pelo risco de doença viscerotrópica bem como possibilidade de reativação da doença autoimune de base no caso dos pacientes reumáticos(13–16). Por outro lado, a segurança e a eficácia da vacina de febre amarela já tinha sido demonstrada em pequenas casuísticas de outros pacientes imunossuprimidos, como pacientes com HIV (17–20), pacientes transplantados de órgãos sólidos(21) e em alguns pacientes com doenças reumáticas que foram inadvertidamente revacinados para a FA (22).

Diante da impossibilidade de afastamento da área de alto risco para alguns pacientes, ponderou-se a possibilidade de vacinação dos pacientes com baixo nível de imunossupressão conforme sugerido pelas recomendações de sociedades médicas, que culminou em nota técnica das Sociedades de Especialistas (Reumatologia, Imunização, Infectologia e Medicina Tropical) (23,24) indicando a vacinação para pacientes com DRAI que estivessem com baixo grau de imunossupressão na Campanha de Vacinação.

No entanto, não existem estudos que avaliem a imunogenicidade da dose fracionada da vacina contra a febre amarela nas DRAI. Alguns relatos e séries de casos de pacientes com DRAI que foram inadvertidamente revacinados em áreas

endêmicas com a dose convencional da vacina contra a febre amarela estão disponíveis (22,25). As reações graves, como “Doença Viscerotrófica Associada à Vacina” (YEL-AVD) e “Doença Neurológica Associada à Vacina” (YEL-AND) estão principalmente associadas com a dose primária e não com a dose de reforço(14), dessa maneira a avaliação sistemática da vacinação primária se faz necessária nesta população de imunossuprimidos.

A segurança da vacinação primária com a dose convencional da VFA foi avaliada recentemente em 211 pacientes com DRAI, e foi obtida frequência de eventos adversos semelhante a 38 controles saudáveis e nenhum evento grave relatado(26). No entanto, nenhum dado da atividade da doença reumática de base foi avaliado após a vacinação. Nesse mesmo estudo (26), uma avaliação prospectiva de 160 pacientes em comparação com 23 controles revelou uma taxa significativamente menor de soroconversão 28 dias após a vacinação nos pacientes (78%), particularmente naqueles com lúpus eritematoso sistêmico (73%) e espondiloartrite (73%), mas ainda sim uma taxa de proteção que justifica a sua utilização em situações epidêmicas. A média geométrica do título de anticorpos neutralizantes também foi significativamente menor em pacientes com doenças autoimunes (160 IC95%144-228;  $p=0,0047$ ), em especial com LES (143 IC95% 61-332;  $p=0,01$ ) e espondiloartrite (112 IC95% 73-170;  $p<0,001$ ), se comparados a controles saudáveis (440 IC95% 291-665)

Essas descobertas promissoras da imunogenicidade e segurança da VFA em dose convencional reforçam a necessidade de estudos com a vacinação também primária, mas com dose fracionada em pacientes DRAI, a fim de permitir o acesso ampliado a vacina, caso haja manutenção da imunogenicidade com a dose menor nesses pacientes, conforme relatado para a população em geral (27). Além disso, a avaliação da atividade da doença reumática pós vacina amplia a análise de segurança da VFA nesses pacientes, uma vez que não seria desejável que a vacina pudesse induzir à atividade da doença reumática.

## **1.2 A Vacina de Febre Amarela convencional e fracionada**

A vacina de febre amarela é uma vacina de vírus vivo atenuado inicialmente produzida em 1937 a partir do vírus selvagem isolado de um paciente africano curado (cepa Asib). Max Theiler submeteu o vírus a 176 passagens em culturas de células

de camundongos e ovos embrionados de galinhas, levando à atenuação do vírus, cepa 17D, porém mantendo a imunogenicidade do mesmo(28,29).

A vacina contra a febre amarela começou a ser produzida no Rio de Janeiro com uma amostra do vírus 17D e 17 DD trazidas de Nova York por Hugh H. Smith, em 1937. Aqui no Brasil, novas passagens do vírus em ovos embrionados de galinhas foram realizadas, chegando-se na década de 1940 a cepa 17 DD (287-289 passagens no total) que é utilizada até hoje, com o objetivo de redução das doenças viscerotrópica e neurotrópica ocasionadas pelo vírus vacinal, no entanto mantendo-se a sua imunogenicidade(30).

Existem hoje quatro produtores de VFA qualificados pela OMS para produção mundial: 1) Bio-Manguinhos (cepa 17DD), 2) Sanofi-Pasteur (cepa 17D-204), 3) Pasteur Institute in Dakar (Senegal) (cepa 17D-204) e 4) Institute of Poliomyelitis and Virus Encephalitis (Russia) (cepa 17D-203) (29).

A VFA em doses fracionadas começou a ser estudada no Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) da Fundação Oswaldo Cruz (FioCruz) como uma forma de aumentar a disponibilidade de doses mundiais diante de surtos da doença e insuficiência na produção mundial de vacina(31). A partir da análise de doses possíveis identificou-se que, entre outras, aquela correspondente a 1/5 da dose convencional, produziu cinética viral similar à dose convencional em pacientes imunocompetentes, inclusive, com o pico de carga viral no 5º dia após vacinação, comportamento este bastante similar entre ambas. Desta maneira, concluiu-se que a replicação viral atingiu um “*steady-state*” independente da dose inicial inoculada acima de um mínimo que foi definido para se obter adequada imunogenicidade(32).

A disponibilização de vacina fracionada no Estado de São Paulo se deu pela necessidade de ampliar rapidamente a cobertura vacinal num cenário com doses mundialmente limitadas de vacina(33). Tal formulação demonstrou adequada imunogenicidade nos estudos que a sugeriram para uso(27,34), e mais recentemente com a reconvocação dos voluntários adultos do primeiro estudo realizado pela FioCruz foi possível a demonstração de 85% de persistência de anticorpos neutralizantes após 8 anos da vacina(32). Essa estratégia foi também eficaz na contenção de surto de FA no Congo(35,36) e está se tornando mais aceita como uma medida de poupar doses, especialmente no contexto de escassez mundial da vacina. Neste contexto, a OMS formulou prioridades para as pesquisas com VFA, dentre as

quais os estudos com dose fracionada para populações especiais, permitindo assim, num futuro próximo, a ampliação das recomendações para a dose fracionada, além do uso para as campanhas de emergência (31,37).

O presente estudo prospectivo e controlado pretende, portanto, definir de forma pioneira a cinética viral, imunogenicidade e segurança da vacina de febre amarela fracionada em pacientes com doenças reumática autoimunes com baixa imunossupressão.

## **2. OBJETIVOS**

**Primário:** - Avaliar a imunogenicidade da vacina da FA fracionada através da dosagem de anticorpos neutralizantes em pacientes com doenças reumáticas autoimunes sistêmicas que residem em área de alto risco

**Secundários:**

- a) Avaliar a segurança da imunização com a vacina contra FA fracionada em pacientes com doenças reumáticas autoimunes sistêmicas
- b) Avaliar a possível associação entre imunogenicidade vacinal com: dados demográficos, atividade clínica e laboratorial da doença, tratamento de pacientes com doenças reumáticas autoimunes sistêmicas e cinética viral.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Desenho do estudo**

Trata-se de estudo observacional prospectivo controlado (Clinical Trials: NCT03430388 / Plataforma Brasil: 82409118.0.0000.0068) realizado de janeiro a abril de 2018 em um único centro referenciado de atendimento terciário.

A triagem dos pacientes com doenças reumáticas de acordo com os critérios de exclusão e inclusão foi feita no ambulatório de reumatologia após avaliação médica, com a utilização de uma amostra de conveniência reunida durante a campanha de vacinação.

Os pacientes com doenças reumáticas e controles foram vacinados contra FA no Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE) do HCFMUSP e no Centro de Atenção ao Colaborador (CEAC) do HCFMUSP, respectivamente, após a inclusão.

O projeto foi submetido e aprovado na Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq/no. 2.477.902 - Anexo) e todos os pacientes e controles assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice).

#### **3.2 População estudada**

Pacientes com as seguintes doenças reumáticas foram avaliados: artrite reumatoide (AR), espondilite anquilosante (EA), artrite psoriásica (AP), artrite idiopática juvenil (AIJ), dermatomiosite adulto (DM), poliomiosite (PM), dermatomiosite juvenil (DMJ), esclerose sistêmica (ES), doença mista do tecido conectivo (DMTC), lúpus eritematoso sistêmico (LES), lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ), vasculites sistêmicas, síndrome de Sjögren primária (SSp).

##### **3.2.1 Critérios de inclusão:**

1. Idade de 18 a 60 anos

2. Pacientes em seguimento regular na Divisão de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) que apresentassem doença reumática definida de acordo com:
  - os critérios de classificação do *American College of Rheumatology* (ACR) para AR (38)
  - os critérios de classificação do *Internacional League of Associations for Rheumatology* (ILAR) (formas de início oligoarticular - estendida ou persistente, poliarticular fator reumatóide positivo, poliarticular fator reumatóide negativo ou sistêmica) para AIJ(39)
  - os critérios de espondiloartrites, mais especificamente de Espondilite Anquilosante (critérios de New York)(40)e Artrite psoriásica (critérios do European Spondyloarthropathy Study Group-ESSG)(41) e classificação de Moll and Wright para Artrite Psoriásica(42).
  - os critérios de classificação do ACR(43) para LES e LESJ segundo
    - os critérios preliminares do ACR (44) para esclerose sistêmica
    - os critérios de Bohan and Peter(45) para miopatias inflamatórias
    - os critérios de Kasukawa & Sharp(46) para DMTC
    - os critérios do ACR para vasculites primárias (arterite de Takayasu, granulomatose com poliangiite, poliarterite nodosa) (47–49)
  - Pacientes com SSp (critérios de classificação do *European Study Group on Diagnostic Criteria for Sjögren's Syndrome*(50)
3. Morassem ou transitassem com frequência (para atividades de trabalho p. exemplo) em área de alto risco sem possibilidade de afastamento temporário.
4. Baixo nível de imunossupressão e tempo de suspensão de biológicos de pelo menos 4 meias-vidas, de acordo com Quadros 1 e 2. Para tal, paciente deveria estar em baixa atividade de doença de acordo com escores validados para cada doença reumática e avaliação clínica pela equipe assistencial.

**Quadro 1.** Medicamentos considerados baixo grau de imunossupressão

Hidroxicloroquina isolada ou com 1 associação abaixo
Sulfassalazina isolada ou com 1 associação abaixo
Prednisona até 20 mg/dia (Em <18 anos: até 0,5mg/kg/dia, máximo 20mg/dia) ISOLADA
Metotrexato até 0,4mg/kg/semana, máximo 20 mg/semana ISOLADO ou associado a prednisona ≤7,5mg/dia
Leflunomida 20mg/dia ISOLADO ou associado a prednisona ≤7,5mg/dia

**Quadro 2.** Biológicos e intervalos de descontinuidade para utilização de vacinas vivas atenuadas

<b>Biológico</b>	<b>Tipo</b>	<b>Meia-vida (dias)</b>	<b>Intervalo pré vacina</b>
Etanercepte	Anti-TNF	3,5 -5,5	25 dias
Infliximabe*	Anti-TNF	9,5	45 dias
Adalimumabe	Anti-TNF	10-20	70 dias
Certolizumabe	Anti-TNF	14	70 dias
Golimumabe	Anti-TNF	14	70 dias
Abatacepte	Inibidor célula T	12,6	70 dias
Tocilizumabe	Anti-IL6	11-13	65 dias
Ustequinumabe	Anti-IL23	21	105 dias
Secuquinumabe	Anti-IL17	27	135 dias
Rituximabe	Inibidor célula B	18-22	6 meses
Belimumabe	Anti-Blys	21	105 dias
Denosumabe	Anti-RANKL	25 dias	6 meses
*Para pacientes em uso de infliximabe isolado (intervalo igual ou acima de 8 semanas) ou em 1 associação com medicamentos considerados de baixo grau de imunossupressão, conforme Quadro 1, a vacina poderia ser administrada após 45 dias da última infusão, respeitando-se o retorno da medicação somente após 4 semanas da dose da vacina.			

**3.2.2 Grupo Controle**

O grupo controle foi composto de indivíduos com idade entre 18 e 60 anos, saudáveis, isto é, sem condições imunossupressoras, que fossem funcionários do complexo HCFMUSP, convidados a participar do estudo durante a campanha de vacinação. Posteriormente à inclusão e seguimento de pacientes e controles pelo tempo previsto no estudo (até D30-45), foi realizado pareamento 1:1 para sexo e idade em anos.

### **3.2.3 Critérios de exclusão para pacientes e controles:**

- História de resposta anafilática aos componentes vacinais ou alergia a ovo
- História de imunização prévia com a vacina da FA
- História de vacina de vírus vivo até 4 semanas antes
- História de vacina inativada até 2 semanas antes
- Doença aguda febril nas últimas 72 horas
- Morar ou transitar fora da área de risco
- Não preencher critérios de baixa imunossupressão, para pacientes DRAI.
- Indivíduos que não aceitassem participar do estudo e/ou cujos responsáveis não concordassem em participar do estudo
- Estar gestante ou amamentando

### **3.2.4 Cálculo Amostral:**

Em razão da ausência de dados em literatura com relação a imunogenicidade da vacina na população de doenças reumáticas em 2018, quando foi iniciado este estudo, definiu-se a utilização de amostra de conveniência dos pacientes com doenças reumáticas autoimunes com baixo nível de imunossupressão e impossibilitados de afastamento da área de alto risco. Seriam, dessa forma, incluídos todos os pacientes que preencheram estes critérios durante a campanha de vacinação do município de São Paulo.

### **3.3 Vacina**

A vacina de febre amarela utilizada foi a vacina 17DD fabricada por Biomanguinhos/FioCruz, dos lotes 174uVFA034Z e 178VFC089Z, sendo estes os mesmos utilizados na campanha de vacinação no Hospital das Clínicas FMUSP. Todos os participantes receberam a dose fracionada, 0,1mL, correspondente a 1/5 da dose convencional (0,5mL), via subcutânea. A dose convencional corresponde a aproximadamente 27.476 UI de vírus vacinal, e, dessa forma a dose fracionada de 0,1mL corresponde a aproximadamente 5495 UI, ainda acima da potência recomendada pela OMS (>1000UI), salvaguardando a integridade da vacina de eventuais limitações na manutenção da cadeia de frio e na administração das doses.

### **3.4 Avaliação clínica, de segurança e vigilância de eventos adversos graves**

Os pacientes e controles passaram por avaliação clínica no dia da vacinação (D0), após 5 dias (D5), após 10 dias (D10) e após 30 a 45 dias (D30-45). Nesses dias, foi feito inquérito ativo dos sintomas para identificação de eventos adversos à vacina.

Os pacientes e controles saudáveis foram orientados quanto aos possíveis efeitos colaterais da vacina. Além disso, foram orientados a anotar em diário padronizado (apêndice B) os sinais e sintomas observados e que ocorreram no período pós-vacinação. Em caso de febre e outros sintomas possivelmente relacionados com a vacina, os pacientes foram orientados quanto aos medicamentos sintomáticos que poderiam ser utilizados e quanto aos sintomas de alarme para procurar atendimento médico. A comunicação foi realizada, nessas situações, também com os pesquisadores executantes por este protocolo para orientação, através do número de telefone celular do protocolo disponibilizado a todos os voluntários. Eventos adversos graves foram definidos como aqueles que resultaram em hospitalização ou óbito.

Um único pesquisador do grupo de Moléstias Infecciosas (Dra. SFC), não participante deste estudo, foi designado para a vigilância de eventos adversos de forma independente e este poderia, a qualquer momento, suspender a continuidade de captação de novos sujeitos para o projeto, se julgasse assim necessário até maior esclarecimento do evento relatado. Os Pesquisadores Responsáveis foram orientados a relatar os eventos adversos graves que ocorressem em formulário específico que deveria ser enviado por e-mail imediatamente à ocorrência.

### 3.4.1 Avaliação da Atividade de Doença Reumática

Com relação à atividade de doença, os pacientes foram avaliados nos tempos D0 e D30-45 com a utilização de escores validados para cada doença reumática:

- 1) LES: *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K)*(51)
- 2) AR: *Disease Activity Score 28 (DAS28)*(38)
- 3) AIJ: *Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS)*(52)
- 4) EA: *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI)*, *Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS)*(40,53)
- 5) Vasculites Sistêmicas: *Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS)*(54)
- 6) DM, PM e DMJ: *Manual Muscle Testing (MMT)*, *Disease Activity Score (DAS)*, *Childhood Myositis Assessment Scale (CMAS)*(55–57) <sup>(80-82)</sup>
- 7) SSp: *EULAR Sjogren's syndrome disease activity index (ESSDAI)*(58,59)

### 3.3.2 Avaliação laboratorial

Foi realizada coleta de sangue para avaliação laboratorial nas visitas D0, D5, D10 e D30-45 conformes quadros 3 e 4 abaixo.

**Quadro 3.** Exames coletados em cada um dos momentos de avaliação D0, D5, D10, D30-45.

	<b>D0</b>	<b>D5</b>	<b>D10</b>	<b>D30-45</b>
Exames de rotina laboratorial: Hemograma, PCR, U, Cr, ALT, AST	X	X	X	X
Viremia	X	X	X	X
Anticorpos Neutralizantes para Febre Amarela	X			X
Citocinas	X			
* PCR: Proteína C Reativa, U: Ureia, Cr: Creatinina, ALT: alanina aminotransferase, AST: aspartato aminotransferase				

**Quadro 4.** Exames específicos solicitados de acordo com a doença reumática de base nos tempos de avaliação de atividade de doença: d0, d30-45.

<b>LES e LESJ</b>	C3, C4, urina tipo 1, proteína e creatinina urinárias em amostra isolada e relação proteinúria/creatinúria, anticorpo anti-DNA de dupla hélice (ELISA e IF)
<b>AIJ, AP, Behcet, Espondiloartrites</b>	Velocidade de hemossedimentação (VHS)
<b>DM/PM/ DMJ-2</b>	CP, aldolase, LDH
<b>Arterite de Takayasu</b>	VHS e anticorpo anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA)
<b>Sd. Sjogren</b>	C3, C4, urina tipo1, proteína e creatinina urinárias em amostra isolada e relação proteinúria/Creatinúria, dosagem sérica de IgG.

### 3.4 Mensuração da viremia do vírus vacinal da febre amarela

O sangue dos pacientes com doenças reumáticas e controles foram coletados para avaliação da viremia nos momentos: D0, D5 quando se tem classicamente o pico de viremia, D10 para definição de viremia prolongada, e D30-45 com janela para coleta  $\pm 3$  dias.

O ensaio quantitativo para determinar a carga viral do vírus vacinal da Febre Amarela foi realizado através de um ensaio de RT-PCR (transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase) em tempo real. Em todas as reações de amplificação foram utilizados controles positivos e negativos. Como controle interno das extrações de RNA foram adicionadas 2  $\mu$ L da vacina da Pólio diluída 1:100. Os ácidos nucleicos totais foram extraídos a partir de 1.000  $\mu$ L de soro ou plasma utilizando o “kit” MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation – Large Volume (cat. nº03730972001, Roche) em aparelho automatizado MagNa Pure Compact Instrument (Roche, Alemanha). A RT-PCR foi realizada utilizando 10  $\mu$ L do RNA, 1  $\mu$ M dos primers, 0,3  $\mu$ M de probe (quadro 1) e 5  $\mu$ L do mix Fast Virus 1-Step Master Mix 4x Kit (cat. nº4444434, Life Technologies) em volume final de 20  $\mu$ L de reação. Para a quantificação absoluta do vírus vacinal, diluições seriadas do produto de PCR contendo a sequência alvo, correspondendo a  $2 \times 10^0$  to  $2 \times 10^6$  cópias foram utilizadas

para construir uma curva padrão. A reação foi realizada utilizando o equipamento StepOne System (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) e o seguinte programa foi utilizado: 50 °C por 10 min, seguido por 50 ciclos de 95 °C por 15 s e 60 °C por 1 min.

Este ensaio foi realizado pelo laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro do HCFMUSP pelas colaboradoras Anna Nishiya e Suzete Cleusa Ferreira Spina Lombardi, sob chefia do Dr. Alfredo Mendrone.

**Quadro 5.** Sequência de primers YFV(1) e vírus da Pólio.

YF-NS5_F	GCACGGATGTAACAGACTGAAGA
YF-NS5_R	CCAGGCCGAACCTGTCAT
YF-NS5Probe	FAM - CGACTGTGTGGTCCGGCCCATC-TAMRA
PV_4F	GCTTTATTGCTCCCAGAGTACTCA
PV_4R	CAATTCGACTGAGGTAGGGTACT
PV_M	VIC – CGTTGGCTTGACTCATTTT

**3.5 Avaliação de imunogenicidade pela titulação de anticorpos neutralizantes pelo método de micro-prnt<sub>50</sub>:**

Os anticorpos neutralizantes de FA foram titulados em amostras de soro usando o teste de neutralização por redução de microplaca (mPRN-YF) realizado em células Vero, com placas de 96 poços e uma etapa de revelação específica para detecção de placas utilizando-se um anticorpo monoclonal para detecção de flavivírus. Resumidamente, as amostras de soro foram diluídas em série (fator de diluição = 3) em meio E199 seguido pela adição de aproximadamente 100 PFU do vírus da febre amarela e incubadas a 37 ° C por 2 h (etapa de neutralização). A mistura (soro + vírus) foi transferida para monocamadas de células Vero (etapa de adsorção) e incubada a 37 ° C por 1 h. As células foram cobertas com 100 µL de meio E199 com 2% de carboximetilcelulose e as placas foram incubadas por 2 dias a 37 ° C em 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram então fixadas, reveladas com anticorpo monoclonal 4G2-HRP e adição de substrato True Blue (KPL) HRP. As placas foram contadas e os títulos de anticorpos neutralizantes foram expressos pela redução em 50% das placas/focos (mPRN-FA50%).

Os resultados foram apresentados como a diluição sérica recíproca, e os valores acima da diluição sérica 1: 100 (3,15 log<sub>10</sub> mIU / mL) foram considerados positivos. Esses ensaios foram realizados no Laboratório de Tecnologia Viroológica de Bio-Manguinhos (LATEV, FIOCRUZ-RJ, Brasil) com amostras de D0 e D30. A taxa de soropositividade foi calculada dividindo o número de positivos (mPRN-FA50%) pelo

total de indivíduos com resultado válido (excluindo resultados indeterminados). A taxa de soroconversão foi obtida dividindo-se o número de indivíduos que eram negativos em D0 e tornaram-se positivos em D30 pelo total de negativos em D0. Os indivíduos cujas amostras apresentaram qualidade inadequada para mensuração de anticorpos foram nomeados indeterminados na avaliação de imunogenicidade.

### **3.6 Dosagem do nível sérico de citocinas**

Foi avaliado perfil de citocinas em amostras de soro do D0 de todos os pacientes reumáticos e controles. Para detecção, foi utilizado o kit comercial MILLIPLEX MAP Human TH17 Magnetic Bead Panel - Immunology Multiplex Assay, que contempla a detecção por imunoenensaio de 25 proteínas plasmáticas listadas a seguir: GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A, IL-17F, IL-17E/IL-25, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-28A, IL-31, IL-33, MIP-3 $\alpha$ /CCL20, TNF- $\alpha$ , TNF $\beta$ .

### **3.7 Análise estatística**

As análises descritivas de pacientes com DRAI e controles pareados por idade e sexo foram realizadas para as características clínicas e epidemiológicas dos pacientes. As variáveis categóricas dos dois grupos foram comparadas usando o teste do qui-quadrado e o teste exato de Fisher, quando aplicável. Para variáveis numéricas contínuas, o teste t de Student ou o teste não paramétrico de Mann-Whitney foram realizados. A Análise de Variância de Medidas Repetidas (ANOVA) foi realizada para a análise longitudinal (D0-D5-D10-D30) de cada parâmetro laboratorial com os testes de comparação múltipla de pares. Essa análise foi realizada para cada parâmetro laboratorial dentro de cada grupo estudado (pacientes com DRAI e controles saudáveis). Para comparar os parâmetros entre os dois grupos, foi realizado um modelo misto com análise de variância de medidas repetidas e procedimento de comparação múltipla (método Holm-Sidak). Para comparação posterior, os pacientes com DRAI também foram subdivididos de acordo com os níveis de neutrófilos e linfócitos na linha de base em: neutropênicos (neutrófilos  $\leq 1.600$  células / mm<sup>3</sup>) ou com neutrófilos normais ( $> 1.600$  células / mm<sup>3</sup>) e linfopênicos ( $\leq 900$  células / mm<sup>3</sup>) ou com linfócitos normais ( $> 900$  células / mm<sup>3</sup>) para comparação de suas cinéticas após a vacinação contra FA. Com o objetivo de encontrar possíveis condições associadas a soroconversão, foi realizada análise bivariada (qui-quadrado ou teste exato de Fisher) com as variáveis referentes às doenças de base mais frequentes,

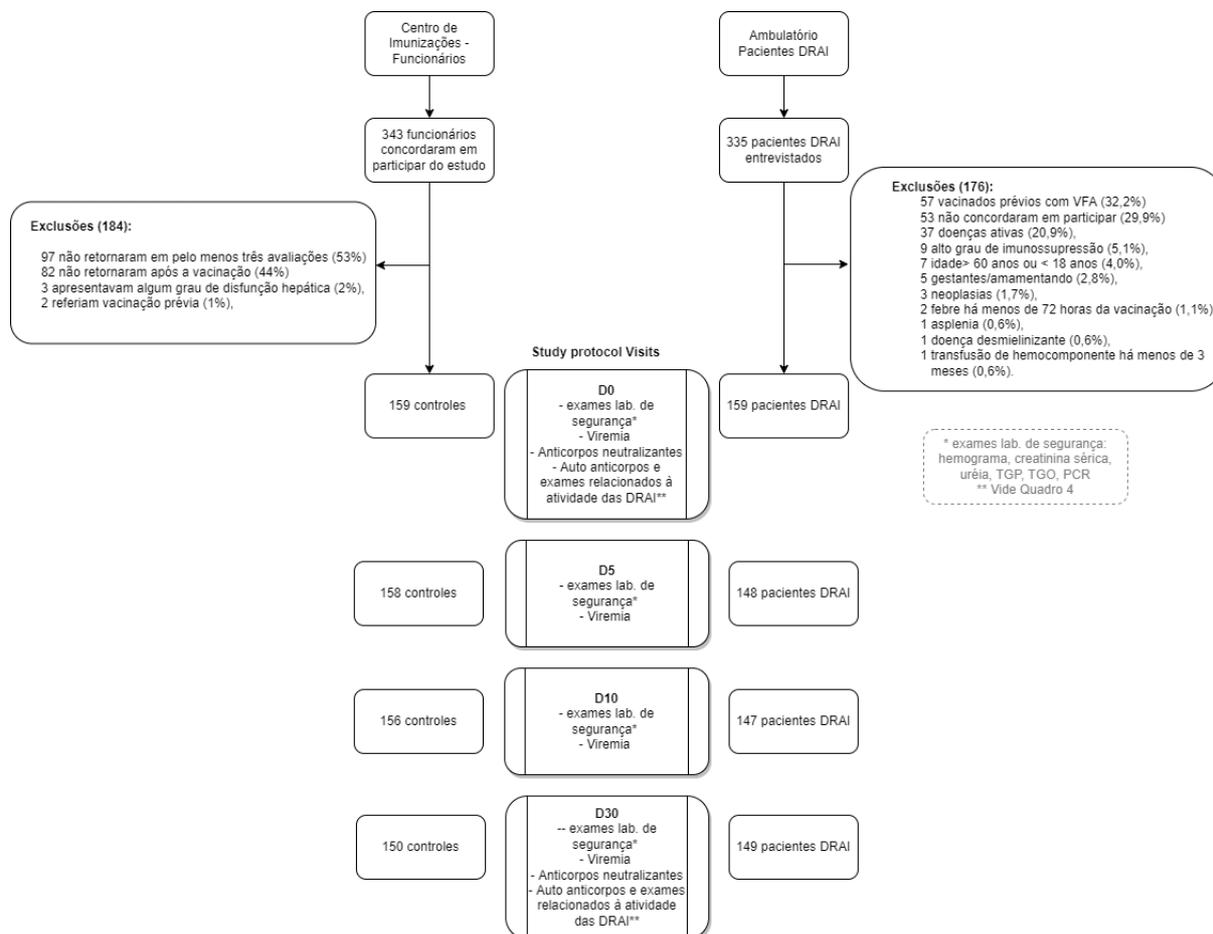
imunossupressores em uso e achados laboratoriais mais relevantes. As variáveis encontradas com valor de  $p < 0,10$  foram utilizadas na análise por regressão logística múltipla. Usamos os softwares SigmaStat (versão 3.0, Systat Software Inc, San Jose-California, EUA) e Prism (versão 7, GraphPad Software Company, San Diego-California, EUA). A significância estatística foi definida para um valor de  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1 População estudada

Um total de 335 pacientes com doenças reumáticas e 343 controles saudáveis foram triados para inclusão no estudo. Foram excluídos 176 pacientes, conforme Figura 1, e o grupo controle foi formado a partir do pareamento de indivíduos saudáveis por sexo e idade na razão de 1:1 com grupo de pacientes reumáticos, incluindo-se aqueles controles que haviam perdido no máximo uma visita de retorno.

**Figura 1.** Fluxograma de Inclusão e seguimento de pacientes com DRAI e controles para avaliação de imunogenicidade da VFA em dose fracionada.



Com relação às características basais, os dois grupos diferiram com relação à cor/raça referida pelos participantes, com maior proporção de caucasianos entre os controles e de mulatos entre os pacientes. Com relação às comorbidades, houve maior frequência de hipertensão arterial sistêmica e cardiopatia entre os pacientes, enquanto a frequência de tabagismo atual foi maior entre os controles (Tabela 1).

Entre as medicações de uso contínuo, o grupo de pacientes reumáticos apresentou maior frequência de uso de anti-hipertensivos, estatinas, fibratos, hormônios tireoidianos e medicamentos psiquiátricos. Os controles apresentaram maior uso de contraceptivos orais.

**Tabela 1.** Características basais de 159 pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e 159 controles saudáveis (CS).

	DRAI	CS	p
Idade (anos - média ± DP)	44,8 ± 12,8	44,3 ± 11,4	0,81
Sexo - n (%)			
- Feminino	137 (86,2%)	137 (86,2%)	
- Masculino	22 (13,8%)	22 (13,8%)	
Cor/raça auto-declarada - n (%)			
- Caucasiana	85 (53,5%)	109 (68,6%)	< 0,01
- Mulata	39 (24,5%)	20 (12,6%)	< 0,01
- Negra	30 (18,9%)	23 (14,5%)	0,290
- Asiática	1 (0,6%)	7 (4,4%)	0,070
- Latino-Americana	4 (2,5%)	0 (0,0%)	0,120
Comorbidades - n (%)			
- Tabagismo prévio	45 (28,3%)	59 (37,1%)	0,090
- Tabagismo atual	9 (5,67%)	33 (20,8%)	< 0,001
- Diabetes	14 (8,8%)	6 (3,8%)	0,060
- Hipertensão arterial sistêmica	56 (35,2%)	30 (18,9%)	< 0,01
- Dislipidemia	35 (22,0%)	30 (18,9%)	0,340
- Cardiopatia	14 (8,8%)	3 (1,9%)	< 0,05
- Hipotireoidismo	12 (7,6%)	5 (3,1%)	0,130
- Dispepsia	7 (4,4%)	4 (2,5%)	0,550
- Outras comorbidades	49 (30,8%)	28 (17,6%)	< 0,001
Peso			
- IMC (media ± DP)	26,9 ± 5,8	27,5 ± 5,7	0,38
- Baixo peso – n (%)	10 (6,3%)	1 (0,6%)	< 0,05
- Peso normal – n (%)	38 (23,9%)	48 (30,2%)	0,150
- Sobrepeso – n (%)	71 (44,7%)	61 (38,4%)	0,200
- Obesidade	40 (25,1%)	40 (25,1%)	
- Obesidade Grau 1 – n (%)	25 (15,7%)	39 (24,5%)	< 0,05

Obesidade Grau 2 – n (%)	12 (7,5%)	6 (3,8%)	< 0,05
Obesidade Grau 3 – n (%)	3 (1,9%)	4 (2,5%)	1,00
<b>Cont. Tabela 1</b>	<b>DRAI</b>	<b>CS</b>	<b>p</b>
- Hipotireoidismo	23 (14,5%)	12 (7,5%)	< 0,01
Medicações de uso contínuo - n (%)			
- Antihipertensivos	56 (35,2%)	29 (18,2%)	< 0,001
- Estatinas e Fibratos	27 (17,0%)	16 (10,1%)	< 0,001
- Agentes hipoglicemiantes	11 (6,9%)	7 (4,4%)	0,13
- Contraceptivos	5 (3,1%)	32 (20,1%)	< 0,001
- Medicamentos psiquiátricos	32 (20,1%)	18 (11,3%)	< 0,001

Lúpus eritematoso sistêmico foi a DRAI mais frequente (42%) entre os pacientes incluídos neste estudo, seguida das artrites inflamatórias (19,5%) e esclerose sistêmica (10,1%) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Distribuição das doenças Reumáticas Autoimunes (DRAI) entre os 159 pacientes

<b>Doenças Reumáticas</b>	<b>n(%)</b>
<b>Lupus Eritematoso Sistêmico/Cutâneo</b>	<b>67 (42,1%)</b>
Adulto	60 (37,7%)
Juvenil	5 (3,1%)
Cutâneo	2 (1,3%)
<b>Artrites Inflamatórias Crônicas</b>	<b>31 (19,5%)</b>
Artrite Reumatoide	11 (6,9%)
Artrite Idiopática Juvenil	10 (6,3%)
Espondilite Anquilosante	8 (5,0%)
Artrite Psoriásica	2 (1,3%)
<b>Esclerose Sistêmica</b>	<b>16 (10,1%)</b>
<b>Sd. Antifosfolípide Primária</b>	<b>15 (9,4%)</b>
<b>Vasculites Sistêmicas Primárias</b>	<b>12 (7,5%)</b>
Doença de Behçet	7 (4,4%)
Arterite de Takayasu	3 (1,9%)
Granulomatose com Poliangiite	2 (1,3%)
<b>Sd. Sjögren Primária</b>	<b>8 (5,0%)</b>
<b>Dermatomiosite/polimiosite</b>	<b>6 (3,7%)</b>
Adulto	3 (1,9%)
Juvenil	3 (1,9%)
<b>Doença Mista do Tecido Conjuntivo</b>	<b>4 (2,5%)</b>

Entre os 159 pacientes, 33,3% não utilizavam drogas imunossupressoras ou imunomoduladoras no D0, 83 (52,2%) utilizavam apenas uma droga e 23 (21,7%) utilizavam associação de drogas imunossupressoras e/ou imunomoduladoras. Somando todos os esquemas de uso, a droga mais frequentemente encontrada foi a

hidroxicloroquina (41,5%), seguida da prednisona (15,7%) e do metotrexato (15,1%). Com relação às doses utilizadas, vale destacar que foram identificadas baixas doses de prednisona com uma dose diária média de 5mg/d (2,5 - 20mg/d) e doses semanais moderadas de metotrexato de 15mg/semana (10-20mg/semana) (Tabela 3).

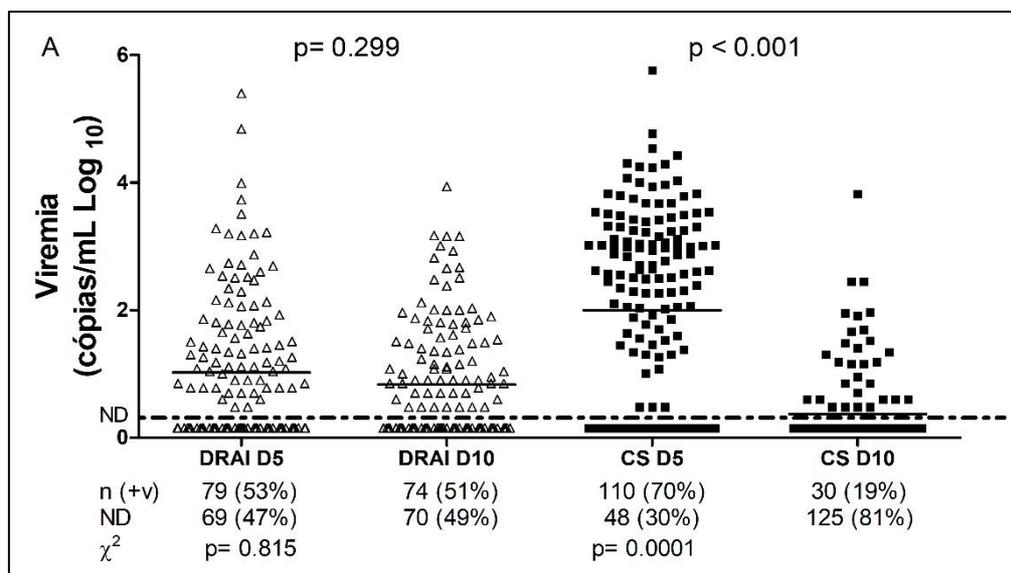
**Tabela 3.** Drogas Imunossupressoras e imunomoduladoras em uso pelos 159 pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI).

Imunossupressão (IS)/ Imunomodulação (IM)		n (%)	
<b>Sem imunossupressão</b>		<b>53 (33,3%)</b>	
<b>Somente uma droga IS/IM</b>		<b>83 (52,2%)</b>	
- Hidroxicloroquina (HCQ)		46 (28,9%)	
- Prednisona (PD)		10 (6,3%)	
- Metotrexato (MTX)		15 (9,4%)	
- Leflunomida (LEF)		9 (5,7%)	
- Sulfasalazina (SS)		3 (1,9%)	
<b>Associação de drogas IS/IM</b>		<b>23 (14,4%)</b>	
HCQ + LEF		2 (1,3%)	
HCQ + LEF + SS		1 (0,6%)	
HCQ + PD + LEF		2 (1,3%)	
HCQ + PD + MTX		2 (1,3%)	
HCQ + MTX		5 (3,1%)	
HCQ + PD		8 (5,0%)	
PD + MTX +SS		1 (0,6%)	
PD + SS		1 (0,6%)	
PD + MTX		1 (0,6%)	
Dose das Drogas Imunossupressoras e Imunomoduladoras em uso			
Dose (mg)	Média± DP	Mediana (Min - Max)	N (%)
Hidroxicloroquina (HCQ) mg/d	397,0 ± 24,4	400 (200 - 400)	66 (41,5%)
Prednisona (PD) mg/d	7,6 ± 4,3	5 (5 - 20)	25 (15,7%)
Metotrexato (MTX) mg/semana	15,3 ± 4,4	15 (10 - 20)	24 (15,1%)
Leflunomida (LEF) mg/d	18,6 ± 3,6	20 (10 - 20)	14 (8,8%)
Sulfasalazina (SS) mg/d	1833,3±408,2	2000 (1,000- 2,000)	6 (3,8%)

## 4.2 Viremia Vacinal

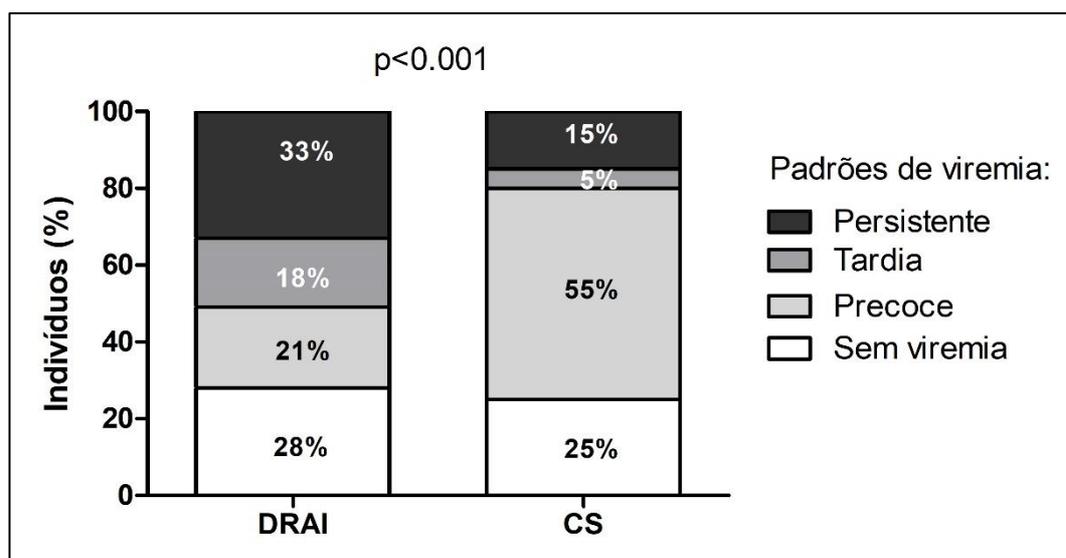
Os pacientes com DRAI apresentaram viremia menos intensa (Figura 2) e mais persistente (Figuras 3 e 4) do que os controles. Uma taxa mais baixa de positividade da viremia do vírus vacinal da FA foi identificada nos pacientes com DRAI em comparação com os controles em D5 (53% vs. 70%,  $p = 0,005$ ). Essa taxa, por sua vez, manteve-se estável para os pacientes e reduziu-se para controles no D10 (51% vs. 19%,  $p = 0,0001$ ).

**Figura 2.** Viremia dos pacientes com doença reumática autoimune (DRAI) e controles saudáveis (CS) em dois momentos: D5 e D10 após receberem a dose fracionada da vacina de febre amarela. Teste T de student para amostras pareadas comparando D5 e D10 de cada grupo e Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) comparando a proporção de indivíduos com viremia positiva (RT-PCR positivo) em cada um dos momentos (D5 e D10) em cada um dos grupos.



n(+v): número de indivíduos com viremia presente; ND: número de indivíduos com viremia (RT-PCR) não detectável.

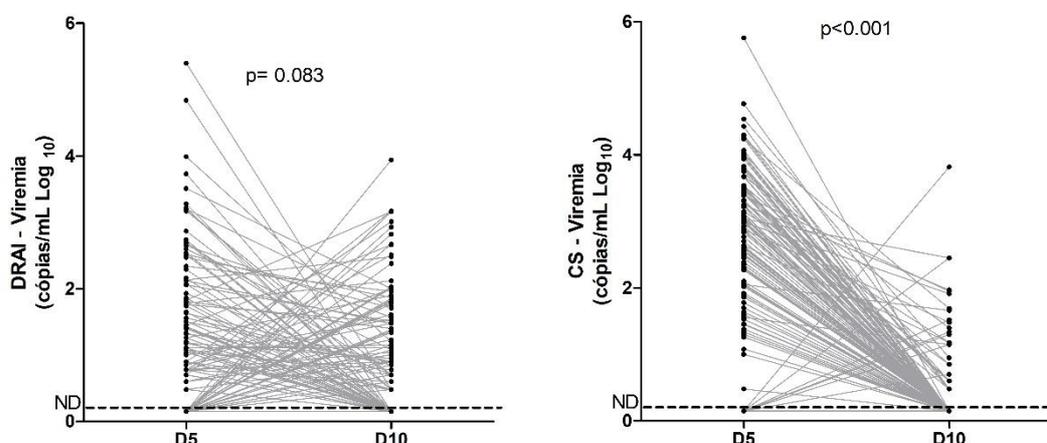
**Figura 3.** Distribuição dos padrões de cinética viral apresentados por pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles saudáveis (CS) após VFA 17DD fracionada



Padrões: viremia persistente (detectável no D5 e D10); precoce (detectável apenas no D5), tardia (detectável apenas no D10), sem viremia (não detectável no D5 e D10).

O valor mediano da carga viral foi maior para controles saudáveis do que para pacientes DRAI em D5 ( $0,7 \pm 1,1$  vs.  $2,3 \pm 1,46$   $\log_{10}$  mUI / mL;  $p < 0,0001$ ) e maior nos pacientes DRAI versus controles no D10 ( $0,48 \pm 0,87$  vs.  $0,15 \pm 0,55$   $\log_{10}$  mUI / mL;  $p < 0,0001$ ). Houve redução da carga viral média do D5 para o D10 no grupo dos controles, mas não no grupo de pacientes DRAI (Figura 2 e 4). Observando-se as Figura 3 e 4 é possível notar que os controles apresentam um padrão de viremia mais precoce e menos persistente do que os pacientes DRAI.

**Figura 4** Cinética viral de cada indivíduo (DRAI e CS) nos momentos de avaliação D5 e D10 após receber a vacina de febre amarela fracionada.



Nenhum controle sadio apresentou viremia detectável no D30 e apenas um paciente apresentou valor detectável de RT-PCR no D30, no valor de 3 cópias/mL. Este paciente apresentava Sd. Antifosfolípide primária como doença de base e não se encontrava em uso de drogas IS ou IM.

### **4.3 Imunogenicidade da dose fracionada da vacina 17DD-YF**

No início do estudo, as taxas de soropositividade (SP) pré vacinação eram mais baixas nos pacientes com DRAI se comparados aos controles (4,1% vs. 14,3%,  $p = 0,0034$ ). Esses indivíduos soropositivos no D0 (6 pacientes e 20 controles) foram excluídos da análise de soroconversão, bem como aqueles com resultados indeterminados na sorologia pós (8 controles) e aqueles que não compareceram na visita do D30 (12 pacientes e 11 controles).

A taxa de SP pós-vacinação também foi menor nos pacientes no D30 (84,4% vs. 96,4%,  $p = 0,0006$ ), bem como a taxa de soroconversão (83,7% vs. 96,6%,  $p = 0,047$ ) (Tabela 4), embora mantidas em níveis acima de 80%.

A média geométrica dos títulos (GMT) de anticorpos neutralizantes foi significativamente menor nos pacientes se comparados aos controles antes [31,2, IC 95% 27,6-35,1 vs. 45,3, IC 95% 39-52,6,  $p < 0,001$ ] e após receberem a VFA fracionada [1143,7, IC de 95% 1012,3-1292,2 vs. 731, IC de 95% 593,6-900,2,  $p < 0,001$ ] (Tabela 4).

Entre as doenças reumáticas, os pacientes com LES (78%), SSp (57,14%), miopatias inflamatórias (PM/DM) (71,4%) e DMTC (50%) apresentaram menores taxas de SC e SP pós vacina, se comparados aos controles nesta amostra.

Com a análise da imunogenicidade em 147 pacientes e 140 controles saudáveis, calculamos, a posteriori, o poder da amostra obtida. Identificamos 93,6% de poder para detecção de diferença significativa entre as taxas de soroproteção pós-vacinação.

**Tabela 4. Imunogenicidade da dose fracionada da Vacina de Febre Amarela (VFA) nos pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles sadios(CS).**

	Taxa de Soropositividade, n (%)		GMT, valor (95% CI)		Taxa de Soroconversão, % [B-A/n-A] (95% CI)	de FI, value (95% CI)
	Antes da Vacinação (A)	Após Vacinação (B)	Antes da Vacinação	Após Vacinação		
<b>DRAI (n=147)<sup>‡</sup></b>	6 (4.1) *	124 (84.4) *	31.2 * (27.6 – 35.1)	731.0 * (593.6 – 900.2)	83,7 [118/141] * (76,6 – 88,9)	23.5 (18.5 – 29.7)
<b>LES (n=60)</b>	1 (1.7) *	47 (78.3) *	27.4 * (23.1 – 32.4)	516.2 * (357.8 – 744.6)	78,0 [46/59] * (65,7 – 86,8)	18.9 (12.8 – 27.8)
<b>AI (n=30)</b>	0 (0) *	29 (96.7)	30.9 * (25.8 – 37.0)	1220.7 (970.7 – 1535.1)	96.7 [29/30] (81,9 – >99,9)	39.5 (29.2 – 53.5)
<b>ES (n=13)</b>	2 (15.4)	12 (92.3)	38.5 (22.0 – 67.3)	1054.4 (657.0 – 1692.1)	90,9 [10/11] (60,1 – >99,9)	27.4 (13.3 – 56.5)
<b>SAF (n=13)</b>	1 (7.7)	13 (100)	29.4 (17.9 – 48.4)	1458 (1458 – 1458)	100 [12/12] (71,8 – 100)	49.5 (30.1 – 81.3)
<b>VASC (n=12)</b>	1 (8.3)	11 (91.7) *	29.9 (20.0 – 44.8)	1082.0 (606.5 – 1930.5)	90,9 [10/11] (60,1 – >99,9)	36.2 (18.6 – 70.5)
<b>SSp (n=8)</b>	1 (12.5)	5 (62.5)	30.6 * (13.1 – 71.5)	361.7 (107.0 – 1223.0)	57,14 [4/7] * (24,98 – 84,25)	11.8 (2.8 – 50.7)
<b>DM/PM (n=7)</b>	0 (0)	5 (71.4) *	51.6 (34.5 – 77.1)	474.8 (136.5 – 1652.2)	71,4 [5/7] * (35,2 – 92,4)	9.2 (2.4 – 35.9)
<b>DMTC (n=4)</b>	0 (0)	2 (50) *	68.2 (42.6 – 109.4)	248.9 (33.7 – 1839.9)	50 [2/4] * (15 – 85)	3.6 * (0.5 – 29.0)
<b>CS (n=140)<sup>†</sup></b>	20 (14.3)	135 (96.4)	45.3 (39 – 52.6)	1143.7 (1012.3 – 1292.2)	96,6 [116/120] (91,4 – 98,9)	25.3 (20.6 – 31)

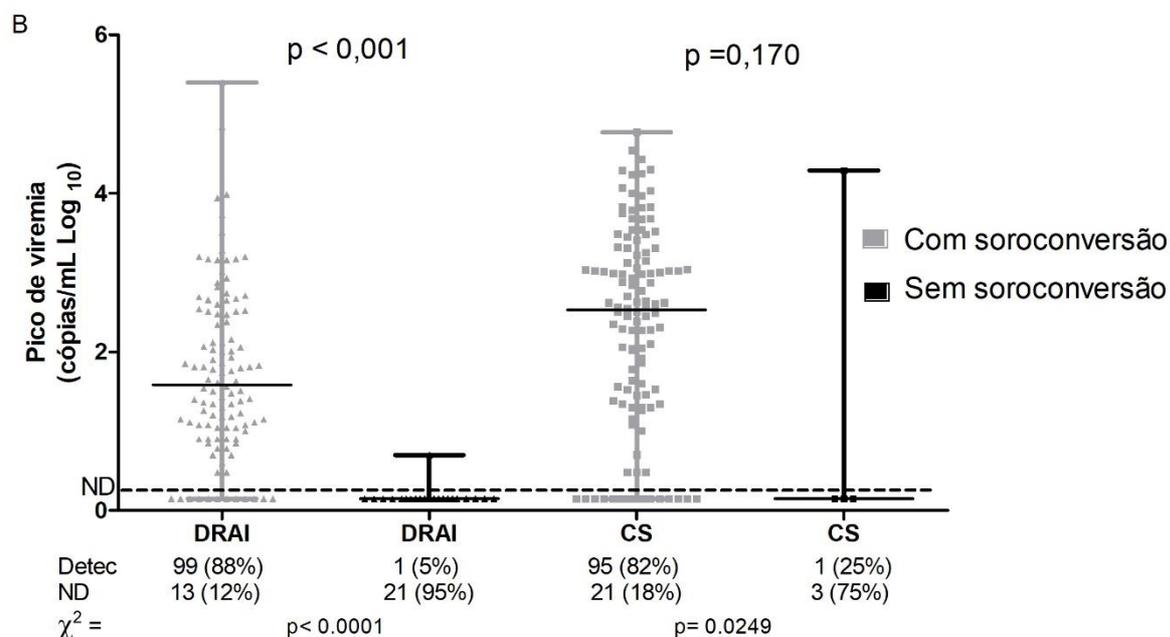
\*  $p < 0.05$ . comparação entre pacientes e controles; GMT- média geométrica dos títulos; CS: Controles Saudáveis; DRAI- Doenças Reumáticas Autoimunes LES – Lupus Eritematoso Sistêmico; AI – Artropatia Inflamatória; ES – Esclerose Sistêmica; SAF – Sd. Antifosfolípide (primária); Vasc- Vasculites Primárias; SSp – Sd Sjögren primária; DM/PM – dermatomiosite/polimiosite; DMTC- Doença Mista do Tecido Conjuntivo.

‡ Dos 159 pacientes DRAI, 12 não compareceram na visita do D30, restando 147 pacientes para análise sorológica.

† Dos 159 controles, 11 não compareceram na visita do D30 e 8 tiveram resultado indeterminado na sorologia pós, restando 140 controles para análise sorológica.

A frequência da ocorrência da viremia, bem como o pico de viremia (maior carga viral detectada em D5 ou D10) foram maiores nos indivíduos que soroconverteram em ambos os grupos (CS e DRAI) (Figura 5).

**Figura 5.** Pico de viremia em pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles saudáveis (CS) vacinados com VFA fracionada com e sem soroconversão.



“Detec”: carga viral detectável; “ND”: carga viral não detectável.

Analisando-se os fatores associados a soroconversão entre os pacientes DRAI, a presença da viremia foi o único fator independentemente associado (Tabela 5), estando sua presença relacionada a um aumento em 83 vezes na chance de soroconverter nesta população. A escolha das variáveis para o modelo baseou-se nas hipóteses feitas de possíveis interferentes na resposta imune com base na plausibilidade biológica e escolheu-se ainda incluir os dois principais grupos de pacientes com DRAI do estudo (LES e AI), considerando-se que seus esquemas imunossupressores bem como fisiopatologia das suas doenças pudessem interferir coletivamente na resposta a vacina.

**Tabela 5.** Análise dos fatores associados a soroconversão 30 dias após a dose fracionada de vacina de febre amarela em pacientes com Doenças Reumáticas Autoimunes (DRAI).

	Análise Bivariada		Análise Multivariada	
	Soroconversão	Sem soroconversão	p	OR (IC95)
DRAI (n=141)	118 n(%)	23 n(%)		
<b>Viremia</b>	1 (4,5)	99 (89,2)	<b>&lt;0,001</b>	<b>83,79 (10,0-703,5)</b>
Linfocitopenia	6 (5,1)	5 (21,6)	<b>0,021</b>	0,24 (0,03-1,8)
Artrites inflamatórias crônicas	29 (24,7)	1 (4,3)	<b>0,059</b>	5,75 (0,4 – 85,7)
LES	41(34,7)	11(47,8)	0,340	
Sexo masculino	18 (15,2)	3 (13,0)	0,962	
Diabetes mellitus	9 (7,6)	3 (13,0)	0,658	
Hipertensão Arterial	41(34,7)	8 (34,8)	0,813	
Dislipidemia	89 (75,4)	18 (78,3)	0,980	
Hidroxicloroquina	49(41,5)	11 (47,8)	0,742	
Prednisona	19 (16,1)	8 (34,8)	<b>0,073</b>	0,92 (0,15-5,73)
Metotrexato	17 (14,4)	6(26,1)	0,28	

#### **4.4 Avaliação do nível sérico basal (D0) de vinte e cinco citocinas em pacientes com doenças reumáticas autoimunes e controles sadios.**

Reuniu-se a amostra total passível de avaliação de soroconversão ou de aumento de quatro vezes no título de anticorpos neutralizantes no D30 em relação ao D0, e foram encontrados 257 indivíduos nessa condição, bem como 29 indivíduos que não apresentaram soroconversão.

Após a comparação de medianas entre os dois grupos, identificou as seguintes citocinas como candidatas para a análise multivariada: CCL20, GM-CSF, IFN $\gamma$ , IL10, IL-15 e IL1 $\beta$ . (Tabela 6)

No entanto, avaliando-se as curvas de correspondência entre a quantificação sérica de cada citocina em pg/mL ou ng/mL e a intensidade média de fluorescência emitida no teste imunoenzimático, foi possível definir que os níveis encontrados de GM-CSF, IFN $\gamma$ , IL-10, IL-15 e IL1 $\beta$  eram valores menores do que os de limiar inferior de detecção precisa do método. Dessa maneira, embora não exista definição em literatura dos valores correspondentes aos limites de normalidade destas citocinas séricas, os valores obtidos nas medianas de ambos os grupos (soroconvertidos e não soroconvertidos) mostraram-se muito baixos, imprecisos, e provavelmente desprovidos de significado clínico, ainda que apresentassem alguma diferença estatisticamente significativa entre si.

A citocina CCL20, por sua vez, demonstrou estar inversamente associada à chance de soroconversão nesta análise.

**Tabela 6.** Análise bi e multivariada do nível sérico basal (D0) de vinte e cinco citocinas nos indivíduos (DRAI+CS) para predição de soropositividade em D30.

	<b>Sem Soroconversão</b>	<b>Com Soroconversão</b>	<b>Análise Bivariada p</b>	<b>Regressão Logística Múltipla</b>	
	Mediana (P25-P75)	Mediana (P25-P75)		<b>OR (IC95%)</b>	<b>p</b>
<b>n</b>	<b>29</b>	<b>257</b>			
IL17F ** ng/mL	0,02 (0,01-0,06)	0,03 (0,01-0,103)	0,437		
<b>GM-CSF</b> ng/mL	0,01 (0-0,01)	0,02 (0,01-0,03)	0,003	0,006381 (1,198e-005 - 0,63)	0,063
<b>INF<math>\gamma</math></b> pg/mL	5,14 (2,21-11,11)	7,28 (3,3-20,2)	0,117	1,01 (1,001 - 1,02)	0,058
<b>IL-10</b> pg/mL	0,07 (0,027 - 0,26)	0,16 (0,03-0,96)	0,076	1,11 (1,01 - 1,42)	0,213
<b>CCL20/MIP3a**</b> pg/mL	<b>44,84</b> <b>(18,94-78,71)</b>	<b>20,88</b> <b>(1,21-44,84)</b>	<b>0,007</b>	<b>0,988</b> <b>(0,98 - 0,99)</b>	<b>0,0004</b>
IL-12p70 pg/mL	3,85 (2,71-6,36)	5,57 (2,31-11,35)	0,343		
IL-13 ** pg/mL	118,28 (95,80-189,71)	133,3 (66,50-193,87)	0,888		
<b>IL-15</b> pg/mL	<b>2,06</b> <b>(0,528-4,06)</b>	<b>3,94</b> <b>(1,34-12,72)</b>	<b>0,016</b>	<b>1,021</b> <b>(0,9845 - 1,068)</b>	<b>0,3125</b>
IL-17A pg/mL	6,42 (4,83-9,38)	7,79 (5,41-11,45)	0,199		
IL-22 ng/mL	0 (0-0)	0 (0-0,23)	0,21		
IL-9 pg/mL	1,96 (1,35-4,97)	3,09 (1,39-6,2)	0,19		
<b>IL-1<math>\beta</math></b> pg/mL	<b>2,31</b> <b>(1,51-3,23)</b>	<b>2,97</b> <b>(1,83-5)</b>	<b>0,013</b>	<b>1,002</b> <b>(0,94 - 1,12)</b>	<b>0,9539</b>
IL-33 pg/mL	0,29 (0,035-14,067)	0,46 (0,01-39,49)	0,502		
IL-2 pg/mL	5,2 (2,66-6,83)	6,43 (3,91-11,01)	0,062		
IL-21 ** pg/mL	12,4 (3,16-27,26)	12,4 (3,78-30,63)	0,731		
IL-4 ng/mL	0 (0-0)	0 (0-0,03)	0,138		
IL-23 ng/mL	0 (0-0,08)	0 (0-3,07)	0,54		
IL-5 pg/mL	3,42 (1,39-9,33)	3,74 (1,85-7,14)	0,772		
IL-6 pg/mL	0,18 (0,065-1,2)	0,24 (0,07-1,35)	0,643		
IL-17/IL-25 ng/mL	0,05 (0,03-0,07)	0,05 (0,03-0,10)	0,902		

IL-27 ** ng/mL	0,61 (0,22-1,28)	0,71 (0,26-1,44)	0,547
IL-31 ng/mL	0,01 (0 - 0,02)	0,01 (0 - 0,07)	0,373
TNF alfa ** pg/mL	9,15 (4,93 -21,96)	8,74 (3,10 - 18,15)	0,327
TNF beta ng/mL	0 (0-0,01)	0,01 (0 - 0,02)	0,238
IL-28A ng/mL	0 (0 - 0,05)	0 (0 - 0,04)	0,398

\*\* citocinas cujos valores de mediana estão acima do limiar confiável de detecção do método imunoenzimático utilizado.

## 4.4 Avaliação de Eventos adversos

### 4.4.1 Sinais e Sintomas Locais e Sistêmicos

A maioria dos sinais e sintomas foram relatados no período dos primeiros 10 dias subsequentes à vacinação. Os mais comuns foram: dor de cabeça, mialgia, fadiga, náusea, artralgia, diarreia, dor abdominal e prurido no local da vacinação (Tabela 7). Os pacientes com DRAI relataram maior frequência de artralgia ( $p = 0,001$ ), cefaléia ( $p = 0,0003$ ), náusea ( $p = 0,049$ ), vômitos ( $p = 0,003$ ), dor abdominal ( $p = 0,001$ ), diarreia ( $p = 0,001$ ), e fadiga ( $p = 0,0034$ ) se comparados aos controles saudáveis.

**Tabela 7** – Eventos locais e sistêmicos registrados após uso da vacina da febre amarela YFV em pacientes com doença autoimune reumáticas (DRAI) e controles saudáveis (CS).

	D0 - D10			D11-D30		
	DRAI n (%)	CS n (%)	p*	DRAI n (%)	CS n (%)	p*
<b>Local</b>						
Erupção cutânea	1 (0,6)	2 (1,3)	1,00	0 (0)	0 (0)	1,00
Edema	1 (0,6)	2 (1,3)	1,00	6 (3,8)	0 (0)	< 0,05
Coceira	34 (21,4)	24 (15,1)	0,15	0 (0)	0 (0)	1,00
<b>Sistêmicos</b>						
Mialgia	82 (51,6)	75 (47,2)	0,43	43 (27)	3 (1,9)	< 0,001
Artralgia	71 (44,7)	42 (26,4)	< 0,001	14 (8,8)	5 (3,1)	0,06
Cefaleia	102 (64,2)	71 (44,6)	< 0,001	12 (7,5)	7 (4,4)	0,06
Febre	15 (9,43)	26 (16,35)	0,07	6 (3,8)	0 (0)	< 0,05

Cont. Tabela 7	D0 - D10			D11-D30		
	DRAI n (%)	CS n (%)	p*	DRAI n (%)	CS n (%)	p*
Mal-estar	60 (37,7)	50 (31,4)	0,24	7 (4,4)	2 (1,3)	0,17
Náusea	56 (35,2)	39 (24,5)	< 0,05	1 (0,6)	1 (0,6)	1,00
Vômito	12 (7,5)	1 (0,6)	< 0,01	8 (5)	0 (0)	< 0,01
Dor abdominal	44 (27,7)	20 (12,6)	< 0,001	5 (3,1)	0 (0)	0,06
Diarreia	49 (30,8)	14 (8,8)	< 0,001	15 (9,4)	0 (0)	< 0,001
Fadiga	65 (40,9)	46 (28,9)	< 0,05	2 (1,3)	2 (1,3)	1,00

Resultados estão apresentados em n (%)

No período de 10 a 30 dias pós vacinação, o edema local, febre, vômito e diarreia foram mais frequentemente observados nos pacientes com DRAI (Tabela 7). Na avaliação final de 30 a 45 dias após a vacinação, a maioria dos pacientes e controles estavam assintomáticos, exceto pela mialgia que foi mais frequente nos pacientes com DRAI (Tabela 7). Nenhum evento adverso grave foi relatado em ambos os grupos.

#### 4.4.2 Parâmetros de Atividade de DRAI

Todos os parâmetros de atividade dos pacientes com DRAI foram medidos por seus respectivos índices e permaneceram estáveis no período de 30 a 45 dias pós vacinação (D0 vs D30).

**Tabela 8.** Índices de atividade de doença padronizados e específicos para cada doença reumática autoimune (DRAI), aferidos antes e 30 dias após a vacina de febre amarela 17DD fracionada

Índice de Atividade de Doença	D0	D30	p
	Média ± DP Mediana (P25-P75)	Média ± DP Mediana (P25-P75)	
LES SLEDAI	1,64 ± 2,48	1,67 ± 2,56	0,829
AR - DAS28	2,18 ± 0,83	2,48 ± 1,05	0,262
AR-CDAI	5,7 ± 7,1	7,3 ± 7,9	0,403
DM - MMT	80 (80 - 80)	80 (80 - 80)	1
DMJ MMT	80 (80 - 80)	80 (80 - 80)	1,0
DMJ CMAS (n=3)	52 (44 - 52)	52 (44 - 52)	1,0
DMJ DAS	0 (0 - 5)	0 (0 - 5)	1,0
AIJ - JADAS	4,36 ± 4,38	5,58 ± 6,56	0,844
AIJ - CHAQ	0,68 ± 0,56	0,625 ± 0,57	1,0

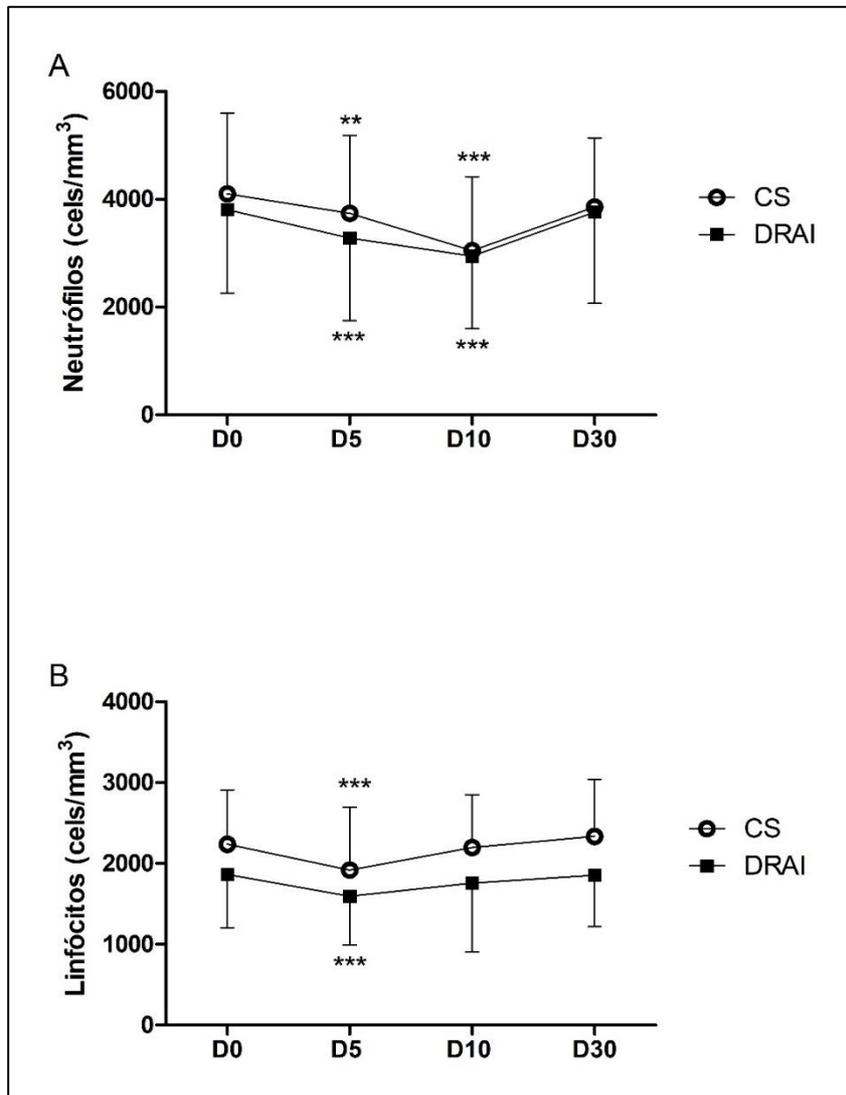
Continuação Tabela 8 Índice de Atividade de Doença	D0	D30	p
	Média ± DP Mediana (P25-P75)	Média ± DP Mediana (P25-P75)	
Sjogren ESSDAI	1,5 ± 2,01	2,2 ± 3,74	0,5
EA BASDAI	2,94 ± 1,74	3,82 ± 0,85	0,13
EA ASDAS PCR	1,88 ± 0,54	2,15 ± 0,71	0,70
EA ASDAS VHS	1,49 ± 0,44	4,04 ± 4,46	0,188
APs DAS28	3,09 ± 2,09 3,09 (1,61 - 4,56)	3,12 ± 4,8 3,96 (3,12 - 4,8)	0,4
Behçet BDCAF	0,9 ± 1,5 0 (0 - 4)	1,5 ± 2,3 0,5 (0 -6)	1,0

DP: desvio padrão; P25: percentil 25; P75: percentil 75.

#### 4.5 Achados laboratoriais gerais

A contagem de neutrófilos e linfócitos basais foi semelhante em ambos os grupos ( $p > 0,05$ ) (Figura 6A e 6B). Em comparação com o valor basal, houve uma diminuição significativa na contagem de neutrófilos (Figura 6A) em D5 seguida por uma redução mais pronunciada em D10, e uma recuperação aos níveis basais em D30 para ambos os grupos estudados ( $p > 0,05$ ) em comparação com os valores basais para ambos os grupos. Para os níveis de neutrófilos, a taxa máxima de redução foi semelhante em pacientes com doença reumática e controles (26,9% vs. 27,0%,  $p > 0,05$ ). Os linfócitos (Figura 6B) também apresentaram redução da sua contagem no D5, mas a recuperação começou mais precocemente, já no D10. Além disso, a taxa máxima de redução também foi semelhante em pacientes com doenças reumáticas e controles (12,3% vs. 14,4%,  $p > 0,05$ ).

**Figura 6.** Cinética de Linfócitos e neutrófilos de pacientes com doenças reumáticas autoimunes (DRAI) e controles saudáveis (CS) vacinados com VFA fracionada. Os valores (cels/mm<sup>3</sup>) representam a média ± DP das medidas em cada momento de avaliação: dia 0 ou basal(D0), dia 5 pós vacinação (D5), dia 10 pós vacinação (D10), e dia 30 pós vacinação (D30). O N para pacientes com DRAI em cada dia é: D0 (n = 159), D5 (n=148), D10 (n= 147), e D30 (n= 149); e para os controles é: D0 (n = 159), D5 (n=158), D10 (n= 156), e D30 (n= 150).

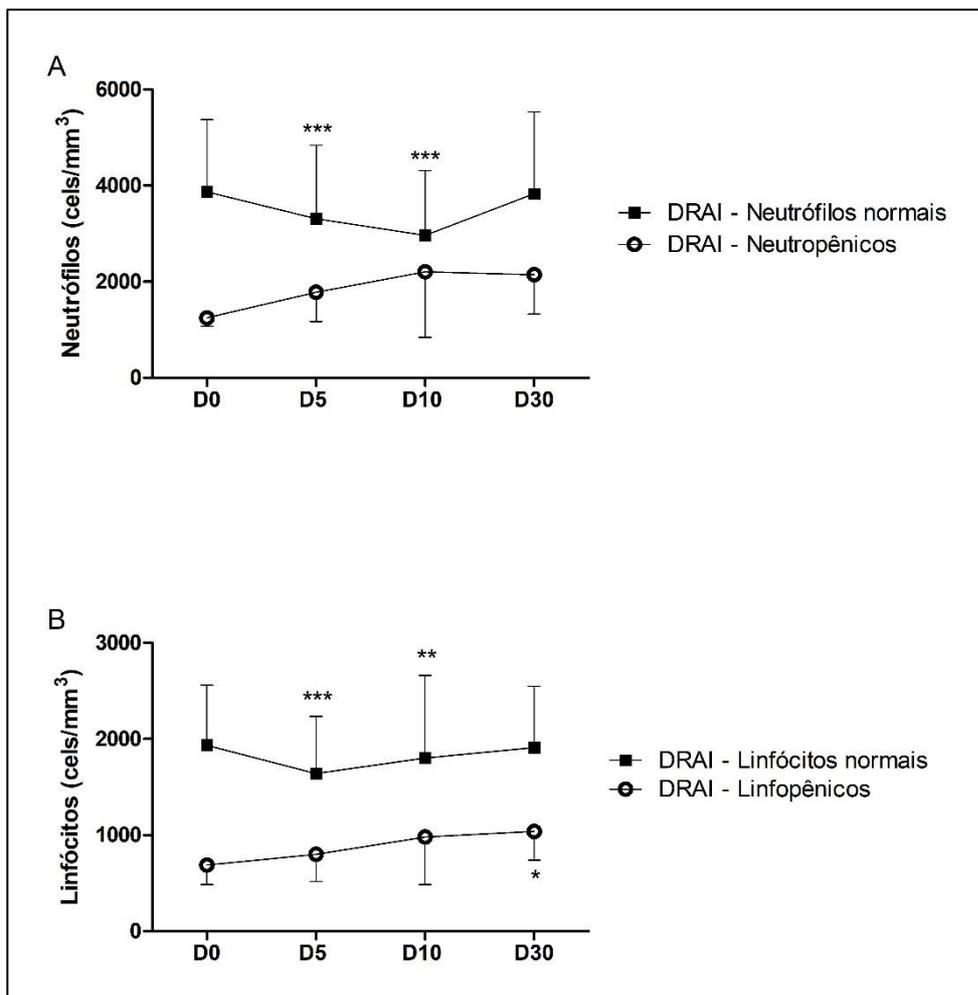


\*p < 0,05 e \*\*\*p < 0,001 comparados ao dia 0 (D0).

Embora a cinética de leucócitos (Figura 8F) e linfócitos (Figura 6B) fossem bastante semelhantes em pacientes reumatológicos e controles, os valores médios foram consistentemente mais baixos no grupo de pacientes em comparação com os controles em todos os momentos avaliados para linfócitos [D0, D5, D10 e D30 (p < 0,001)] (Figura 6B) e leucócitos [D0 e D10 (p < 0,01), D5 (p < 0,001) e D30 (p < 0,05)] (Figura 8F).

A avaliação específica da cinética celular dos pacientes neutropênicos (Figura 7A) (<1,600 cels/mm<sup>3</sup>) e linfopênicos (<900 cels/mm<sup>3</sup>) (Figura 7B) foi realizada para esses parâmetros com o objetivo de verificar qual seria o impacto no valor de nadir de neutrófilos e linfócitos nesses pacientes (Figura 7). Foram identificados quatro pacientes neutropênicos e nove pacientes linfopênicos. Não houve controles saudáveis com neutropenia ou linfopenia. Esta análise revelou que pacientes reumatológicos com neutropenia ou linfopenia apresentavam uma cinética diferente destas células, sem redução dos seus níveis após a vacinação (D5, D10), como foi descrito para os demais participantes deste estudo (Figura 6).

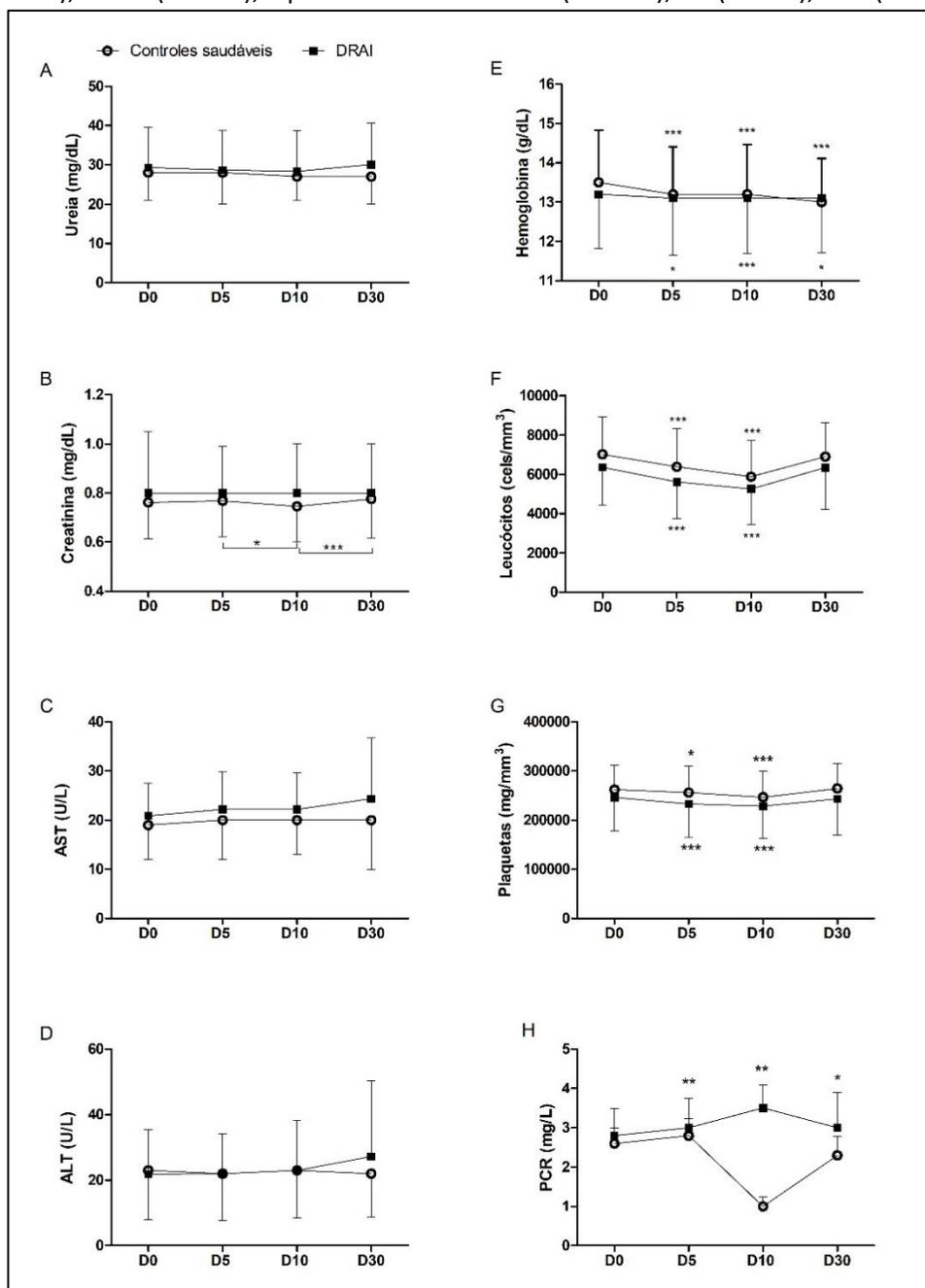
**Figura 7.** Cinética de Linfócitos e neutrófilos de pacientes com DRAI vacinados com VFA fracionada, comparando-se pacientes neutropênicos vs não-neutropênicos e linfopênicos vs não-linfopênicos. Valores (cels/mm<sup>3</sup>) representam a média ± DP das medidas em cada momento de avaliação: dia 0 or basal (D0), dia 5 pós vacinação (D5), dia 10 pós vacinação (D10), e dia 30 pós vacinação (D30).



\*p < 0,05, \*\* p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 comparados ao dia 0 (D0).

Os exames relacionados à função renal (ureia e creatinina) e transaminases (AST e ALT) permaneceram estáveis durante todos os momentos de avaliação se comparados aos níveis basais. Diferenças estatisticamente significantes foram encontradas nos valores de hemoglobina, plaquetas e proteína C reativa, no entanto, foram diferenças numéricas sem relevância clínica (Figura 8). Nenhuma disfunção ou alteração grave foi identificada nos exames laboratoriais avaliados individualmente.

**Figura 8.** Achados Laboratoriais dos pacientes com DRAI e controles saudáveis vacinados com VFA fracionada. Valores representam média  $\pm$  DP das medidas em cada momento de avaliação: dia 0 or basal(D0), dia 5 pós vacinação (D5), dia 10 pós vacinação (D10), e dia 30 pós vacinação (D30). O N para pacientes com DRAI em cada dia é: D0 (n = 159), D5 (n=148), D10 (n= 147), e D30 (n= 149); e para os controles é: D0 (n = 159), D5 (n=158), D10 (n= 156), e D30 (n= 150).



\*p < 0,05, \*\* p< 0,01 e \*\*\*p < 0,001 comparados ao dia 0 (D0).

PCR- Proteina C Reativa; ALT- alanina transferase, AST – aspartato transferase

## 5. DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo prospectivo realizado especificamente para avaliar a imunogenicidade de curto prazo de uma dose fracionada de 17DD-VFA em pacientes reumatológicos sem atividade de doença, sob baixa imunossupressão e demonstrou claramente que a dose mais baixa de VFA resultou em um alto nível de imunogenicidade, embora inferior à de controles saudáveis pareados por sexo e idade, com um perfil de segurança favorável, sem induzir reativação das doenças reumáticas de base. A vacina foi, no geral, bem tolerada e uma diminuição transitória de neutrófilos e linfócitos com recuperação completa após um mês foi identificada em pacientes e controles.

Os níveis de soropositividade e soroconversão foram satisfatórios nos pacientes com DRAI (84,4% e 83,7%), apesar de receberem dose fracionada de VFA. Ambos parâmetros foram, no entanto, inferiores aos do grupo de controles saudáveis, e àqueles relatados na população vacinada em uma campanha de grande escala realizada na República Democrática do Congo em 2016 (35). É importante ressaltar que esta é a primeira demonstração de que VFA fracionada mantém imunogenicidade em níveis comparáveis aos descritos para dose convencional em pacientes reumatológicos (78%) (26), sugerindo que o uso de dose fracionada é adequado para estes pacientes durante um surto de FA. A avaliação de curto prazo realizada neste estudo é uma limitação do mesmo e análises futuras para a investigação da duração da imunidade pós-vacinação nesses pacientes devem ser realizada, uma vez que uma resposta sustentada de oito anos foi relatada para a população em geral (32), mas não há dado na população reumatológica.

Curiosamente, de forma semelhante à nossa população com DRAI, a viremia prolongada para FA foi previamente relatada em indivíduos idosos vacinados com 17DD YFV (60). Uma rede complexa de citocinas pró e anti-inflamatórias com uma participação proeminente da imunidade inata está associada com a resposta imune após a primo-vacinação com 17DD YF e potencialmente deve interferir na viremia vacinal documentada (61). Um possível fator que influencia a replicação viral após a vacinação é uma resposta imune inata deficitária em pacientes com doença reumática, como também observado na população idosa. Esta, em associação a uma resposta humoral prejudicada, poderia permitir um tempo mais longo de replicação do vírus 17DD YF.

É importante ressaltar que apenas pacientes com doença reumática com baixa imunossupressão foram incluídos no presente estudo, a fim de minimizar os riscos de eventos adversos graves da vacina, conforme recomendado pela Sociedade Brasileira de Reumatologia e EULAR para vacinação com vacinas de vírus vivo atenuado (16,24). Portanto, o ambiente de citocinas avaliado no momento pré-vacinação, bem como o efeito dos imunossupressores na resposta vacinal podem não refletir o que ocorreria em pacientes mais ativos de sua doença de base e/ou imunossuprimidos.

O pareamento por idade e sexo também foi relevante, uma vez que a idade avançada e o sexo masculino foram relatados como associados a um maior risco de eventos adversos graves (60,62). O uso de um diário pessoal para registrar todos os possíveis efeitos colaterais, que foi verificado cuidadosamente nas visitas de retorno durante um mês de acompanhamento no estudo, permitiu uma identificação mais abrangente da reatogenicidade da vacina contra FA em dose fracionada do que aqueles relatados previamente. A maior frequência de eventos adversos sistêmicos do que locais, observados neste estudo, também foi encontrado em outro trabalho retrospectivo e multicêntrico realizado nas clínicas de viagens da Universidade de Zurique que incluiu viajantes em terapia imunossupressora/imunomoduladora que receberam vacinas de vírus vivo (incluindo VFA) entre 2008 e 2015(63).

Eventos adversos graves não foram observados em pacientes com doenças reumáticas sob baixa imunossupressão no presente estudo, apesar de existirem alguns poucos relatos de casos de doença neurotrópica e doença viscerotrópica relacionadas à vacina contra febre amarela em pacientes com doenças imunomediadas (64,65). Uma revisão de 40 estudos que utilizaram vacinas de vírus vivos em pacientes com doenças inflamatórias imunomediadas também relatou uma incidência muito baixa de eventos adversos graves (64), bem como no estudo prospectivo com a dose convencional (completa) de 17DD-YFV em pacientes com doenças autoimunes, no qual também não se encontrou eventos adversos graves (26).

Demonstramos ainda que a VFA não parece induzir uma piora nos parâmetros de atividade da doença. Na verdade, pela primeira vez, a segurança desta vacina viva atenuada foi avaliada por índices padronizados de atividade da doença para cada doença reumática. Digno de nota, o uso de vírus vivo atenuado em pacientes imunossuprimidos é acompanhado de preocupação pela comunidade médica, particularmente na reumatologia, em razão do risco potencial de “flares” da doença

subjacente ou aparecimento de novas doenças autoimunes após a vacinação, embora nenhuma relação causal clara tenha sido demonstrada (16). Este também foi um dos achados do estudo controlado que avaliou atividade de doença reumática após vacina inativada de influenza na pandemia de influenza A H1N1 em 2009 e não encontrou aumento significativo de reativações (4).

A cinética de linfócitos encontrada neste estudo para pacientes com doenças reumáticas e controles confirma os achados descritos em 18 adultos saudáveis que tiveram suas células sanguíneas periféricas estudadas após a vacina 17D-YF (66). Uma diminuição nas contagens de linfócitos B, TCD4, TCD8 nos primeiros 4 dias com normalização subsequente após o dia 10, e um aumento nas células T e B específicas de YFV-17D foi encontrado. Da mesma forma, uma diminuição significativa, mas transitória, nas contagens de CD4 foi identificada no dia 7 em indivíduos HIV-negativos e infectados pelo HIV vacinados para febre amarela (67). A hipótese é de que, no período entre o dia 4 e o 10 após a vacinação, os linfócitos são recrutados para órgãos linfóides com o objetivo de iniciar a resposta adaptativa que, por sua vez, é detectada no sangue periférico, em seu pico, no 14<sup>o</sup>. dia após a vacinação (66).

Para os neutrófilos, o nadir foi mais tardio (dia 10) com uma recuperação completa no dia 30. Esses achados podem ser explicados pelo aumento relatado na produção de citocinas e pico de carga viral durante a primeira semana após a vacinação convencional e fracionada contra FA(27). A imunidade inata, mas não a adaptativa, é apontada como o elemento mais importante para o controle da viremia da FA (68) e a curva de neutrófilos pode refletir essa condição.

Supreendentemente, a contagem de neutrófilos e linfócitos permaneceu estável, sem redução adicional em pacientes reumatológicos com neutropenia e/ou linfopenia de base, em contraste com aqueles com níveis normais no início do estudo. Este é um achado clínico tranquilizador, mas a pequena representação desses pacientes neutropênicos e/ou linfopênicos em nosso estudo impede uma conclusão definitiva sobre esse achado. Talvez a ligação entre imunidade inata e adaptativa esteja desorganizada nesses pacientes, contribuindo para a diferente cinética nas células imunes.

Neste estudo, a carga viral foi menor nos pacientes com doenças reumáticas do que nos controles. Foi, a princípio, um achado inesperado, uma vez que a hipótese inicial era de que a imunossupressão poderia favorecer a detecção de uma carga viral maior nos pacientes. No entanto, este resultado também foi observado em um grupo

pequeno de pacientes reumáticos que receberam a dose convencional e tiveram sua carga viral mensurada (26). Dessa forma, a viremia dos pacientes parece ser mais afetada pela atividade da resposta imune do que pela quantidade de partículas virais inicialmente inoculadas. Um exemplo disto é o achado de que a ativação imune no momento pré-vacinação imediato interferiu negativamente na viremia e na produção de anticorpos após a vacina 17D-YF em habitantes de Entebbe (Uganda) em comparação com os de Lausanne (Suíça) no estudo de Muyanja et al (69). As células NK e monócitos mostraram-se mais ativadas no momento pré- e pós-vacinação, com uma maior liberação de IFN $\gamma$  em indivíduos de Entebbe, que, por sua vez, apresentaram menor viremia (69). Em pacientes reumatológicos, a ativação imune produzida pela doença de base poderia ser responsável por diminuir a carga viral e, conseqüentemente, diminuir a resposta humoral subsequente, uma vez que, em nosso estudo, viremias mais elevadas estiveram associadas à soroproteção.

Considerando a hipótese de ativação imune basal e o perfil de citocinas encontrado no momento pré-vacinação para o total de sujeitos da amostra, identificamos que maiores valores de CCL20 estiveram relacionados a menor chance de soroconversão. Esta citocina, é uma quimiocina, também chamada de MIP3 $\alpha$  (Proteína Inflamatória de macrófagos 3 alfa) e foi descrita pela primeira vez em 1997, como parte de uma (CC) das quatro famílias de quimiocinas existentes (C, CC, CXC, CX3C). Sua produção ocorre principalmente em tecido hepático, pulmonar, cólon, pele e em tonsilas, embora a maioria dos tecidos corporais a produza em quantidades menores do que os primeiros. Seu receptor é o CCR6, que está expresso principalmente em células dendríticas, Linfócitos T de memória, Linfócitos B e Linfócitos Th17, definindo a atração dessas células para os sítios com sua maior concentração, em especial pele e mucosas(70).

O binômio CCL20-CCR6 está presente em cenários fisiológicos e patológicos, e entre estes últimos, destacam-se neoplasias (cólon, pâncreas, melanomas), doenças neurológicas como esclerose múltipla, doenças cutâneas como psoríase, dermatite atópica e doenças reumáticas como Artrite Reumatóide, Arterite de Takayasu, Artrite Idiopática Juvenil e Lupus Eritematoso Sistêmico(70).

Nas doenças reumáticas como Arterite de Takayasu (71), e Artrite Reumatóide (72) correlaciona-se diretamente com atividade de doença, inclusive em pacientes com vasculite, com marcadores inflamatórios clássicos normais (PCR e VHS). Para AR, há na literatura científica correlação positiva robusta de níveis de CCL20 com o

título de fator reumatóide e anti-CCP, bem como com a pontuação de DAS28 e o valor de VHS (72).

No Lúpus, a correlação dos níveis séricos de CCL20 com marcadores de atividade é controversa ainda, no entanto, aparentemente, a maior proporção de linfócitos ThCD4<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup> tem sido observada em pacientes como lúpus comparados a indivíduos saudáveis e estes estariam envolvidos na indução de linfócitos B CCR6<sup>+</sup> produtores de auto-anticorpos (73).

Transpondo esses dados do funcionamento do binômio CCL20-CCR6 para a resposta imune vacinal, pode-se considerar que os níveis séricos aumentados de CCL20 se traduzam em maior ativação imune basal nos sujeitos que não apresentaram soroconversão ou aumento no título de anticorpos. Essa maior ativação imune poderia ser responsável pela menor frequência e intensidade de viremia, inclusive com maior contenção da replicação viral já no sítio de inoculação da vacina, que é subcutâneo, pela atração de células dendríticas e de linfócitos para o local.

Dada a complexidade da fisiopatologia das doenças reumáticas autoimunes bem como da resposta imune à vacina seria muito simplista e pretencioso basear a explicação dos achados de viremia em uma única quimiocina. Seguramente a interação desses dois elementos associados às possíveis interferências das variações de unidades internacionais de vírus inoculadas no ato da aplicação da vacina e falhas na cadeira de frio que, eventualmente ocorrem, são fatores que podem interferir na viremia vacinal obtida. Além disso, não somente a CCL20, mas outras citocinas que não foram dosadas neste trabalho, bem como presentes em outros sítios, que não o soro, podem estar implicadas também na viremia dos vacinados. No entanto, considerando a maior facilidade de aferição de substâncias séricas, novas validações dessa e de outras hipóteses podem ser realizadas em amostras maiores, no futuro, com o objetivo de se obter um “cut-off” para predição de soroconversão.

Neste presente estudo a soroconversão esteve relacionada a menores níveis de CCL20, e entre os pacientes DRAI, a presença de viremia foi o único fator independente associado a soroconversão, com aumento em cerca de 83 vezes na chance de se obter esse desfecho. Outros potenciais fatores que poderiam estar relacionados negativamente à chance de soroconversão, como linfopenia e uso de corticoterapia (em baixa dose), não se sustentaram na análise multivariada, com a ressalva de que eram pacientes com baixo nível de imunossupressão, de modo que,

eventualmente, em pacientes mais imunossuprimidos esses fatores poderiam ter maior importância.

## 6. CONCLUSÃO

Em conclusão, a vacina 17DD-YF fracionada foi segura e não induziu exacerbações das doenças de base em pacientes com doenças reumáticas com baixa imunossupressão, e pode ser considerada em situações de surto de febre amarela, uma vez que atingiu imunogenicidade adequada.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Mantel N, Aguirre M, Gulia S, Girerd-Chambaz Y, Colombani S, Moste C, et al. Standardized quantitative RT-PCR assays for quantitation of yellow fever and chimeric yellow fever–dengue vaccines. *J Virol Methods*. 2008 Jul;151(1):40–6.
2. Silva CA, Aikawa NE, Bonfa E. Vaccinations in juvenile chronic inflammatory diseases: an update. *Nat Publ Gr*. 2013;9(September).
3. Aikawa NE, Franc ILA, Ribeiro AC, Sallum AME, Bonfa E, Silva CA. Short and long-term immunogenicity and safety following the 23-valent polysaccharide pneumococcal vaccine in juvenile idiopathic arthritis patients under conventional DMARDs with or without anti-TNF therapy. 2015;33:604–9.
4. Saad CGS, Borba EF, Aikawa NE, Silva CA, Pereira RMR, Calich AL, et al. Immunogenicity and safety of the 2009 non-adjuvanted influenza A/H1N1 vaccine in a large cohort of autoimmune rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jun;70(6):1068–73.
5. Barbosa CMPL, Terreri MTRA, Rosário PO, De Moraes-Pinto MI, Silva CAA, Hilário MOE. Immune response and tolerability of varicella vaccine in children and adolescents with systemic lupus erythematosus previously exposed to varicella-zoster virus. *Clin Exp Rheumatol*. 2012;30(5):791–8.
6. Ministério da Saúde. Monitoramento do período sazonal da Febre Amarela - Brasil 2017/2018. Vol. 26, Informe Epidemiológico - SVS - Ministério da Saúde. 2018. p. 1–12.
7. Jones EM, Wilson DC. Clinical features of yellow fever cases at Vom Christian Hospital during the 1969 epidemic on the Jos Plateau, Nigeria. *Bull World Health Organ*. 1972;46(5):653–7.
8. Quaresma JAS, Pagliari C, Medeiros DBA, Duarte MIS, Vasconcelos PFC. Immunity and immune response , pathology and pathologic changes : progress and challenges in the immunopathology of yellow fever †. *Rev Med Virol*. 2013;DOI: 10.10.

9. States M, Strategic WHO, Group A, Grade T, Sage T. Yellow fever vaccine : WHO position on the use of fractional doses – June 2017 Addendum to Vaccines and vaccination against yellow fever WHO : Position Paper – June 2013 Vaccin contre la fièvre jaune : Position de l ' OMS sur l ' utilisation de doses frac. *Wkly Epidemiol Rec.* 2017;25(June):345–50.
10. Paper WHOP. Vaccines and vaccination against yellow fever. WHO position paper -- June 2013. *Wkly Epidemiol Rec.* 2013;88(27):269–83.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Situação epidemiológica da febre amarela no monitoramento 2019/2020. *Bol Epidemiológico.* 2020;51(1):1–19.
12. Amarela F, Urbana FA, Silvestre FA, Observados S, Considera-se REAP, Quando FA. Nota Informativa Nº 022 , De 2017 / Devit / Svs / Ms. 2017;(61).
13. Brasil M da S. Orientações quanto à vacinação contra a febre amarela. Site Ministério da Saúde. 2018;
14. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis B. Manual de Vigilância Epidemiológica de Eventos Adversos Pós-Vacinação. 2014. 1–254 p.
15. van Assen S, Agmon-Levin N, Elkayam O, Cervera R, Doran MF, Dougados M, et al. EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2011 Mar;70(3):414–22.
16. Furer V, Rondaan C, Heijstek MW, Agmon-Levin N, Van Assen S, Bijl M, et al. 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2020;79(1):39–52.
17. Veit O, Domingo C, Niedrig M, Staehelin C, Sonderegger B, Héquet D, et al. Long-term Immune Response to Yellow Fever Vaccination in Human Immunodeficiency Virus (HIV)–Infected Individuals Depends on HIV RNA Suppression Status: Implications for Vaccination Schedule. *Clin Infect Dis.* 2018 Mar;66(7):1099–108.
18. Barte H, Horvath TH, Rutherford GW. Yellow fever vaccine for patients with HIV infection. In: Rutherford GW, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2014. p. CD010929.
19. Sidibe M, Yactayo S, Kalle A, Sall AA, Sow S, Ndoutabe M, et al. Immunogenicity and safety of yellow fever vaccine among 115 HIV-infected patients after a preventive immunisation campaign in Mali. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012 Jul;106(7):437–44.
20. Avelino-Silva VI, Miyaji KT, Hunt PW, Huang Y, Simoes M, Lima SB, et al. CD4/CD8 Ratio and KT Ratio Predict Yellow Fever Vaccine Immunogenicity in HIV-Infected Patients. Williams M, editor. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 Dec;10(12):e0005219.
21. Azevedo LS, Lasmar EP, Contieri FLC, Boin I, Percegon L, Saber LTS, et al. Yellow fever vaccination in organ transplanted patients: is it safe? A multicenter study. *Transpl Infect Dis.* 2012 Jun;14(3):237–41.
22. Oliveira ACV V., Mota LMHH, Santos-Neto LL, Simões M, Martins-Filho OA, Tauil PL. Seroconversion in Patients With Rheumatic Diseases Treated With

- Immunomodulators or Immunosuppressants, Who Were Inadvertently Revaccinated Against Yellow Fever. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Feb;67(2):582–3.
23. Pileggi GS, Da Mota LMH, Kakehasi AM, De Souza AW, Rocha A, de Melo AKG, et al. Brazilian recommendations on the safety and effectiveness of the yellow fever vaccination in patients with chronic immune-mediated inflammatory diseases. *Adv Rheumatol.* 2019 Dec;59(1):17.
  24. A Sociedade Brasileira de Reumatologia (SBR), em parceria com a Sociedade.
  25. Muniz LF, Silva CR, Costa TF, da Mota LMH. Vaccination in patients from Brasília cohort with early rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol (English Ed.)* 2014 Sep;54(5):349–55.
  26. Valim V, Machado KLLL, Miyamoto ST, Pinto AD, Rocha PCM, Serrano EV, et al. Planned Yellow Fever Primary Vaccination Is Safe and Immunogenic in Patients With Autoimmune Diseases: A Prospective Non-interventional Study. *Front Immunol.* 2020 Jul;11:1382.
  27. Campi-Azevedo AC, de Almeida Estevam P, Coelho-dos-Reis JG, Peruhype-Magalhães V, Villela-Rezende G, Quaresma PF, et al. Subdoses of 17DD yellow fever vaccine elicit equivalent virological/immunological kinetics timeline. *BMC Infect Dis.* 2014 Dec;14(1):391.
  28. Theiler M, Smith HH. The use of yellow fever virus modified by in vitro cultivation for human immunization. *J Exp Med.* 1937;65(6):787–800.
  29. Ferreira C de C, Campi-Azevedo AC, Peruhype-Magalhães V, Costa-Pereira C, Albuquerque CP de, Muniz LF, et al. The 17D-204 and 17DD yellow fever vaccines: an overview of major similarities and subtle differences. *Expert Rev Vaccines.* 2018;17(1):79–90.
  30. Benchimol JL. Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada. *Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada.* 2001.
  31. World Health Organization. WHO position on the use of fractional doses – June 2017, addendum to vaccines and vaccination against yellow fever WHO: Position paper – June 2013. *Vaccine.* 2017 Oct;35(43):5751–2.
  32. de Menezes Martins R, Maia M de LS, de Lima SMB, de Noronha TG, Xavier JR, Camacho LAB, et al. Duration of post-vaccination immunity to yellow fever in volunteers eight years after a dose-response study. *Vaccine.* 2018 Jun;36(28):4112–7.
  33. São Paulo, Rio de Janeiro e Bahia adotarão fracionamento das doses da vacina CAMPANHA DE VACINAÇÃO CONTRA FEBRE AMARELA.
  34. Martins RM, Maia M de LS, Farias RHG, Camacho LAB, Freire MS, Galler R, et al. 17DD yellow fever vaccine. *Hum Vaccin Immunother.* 2013 Apr;9(4):879–88.
  35. Casey RM, Harris JB, Ahuka-Mundeke S, Dixon MG, Kizito GM, Nsele PM, et al. Immunogenicity of Fractional-Dose Vaccine during a Yellow Fever Outbreak — Final Report. *N Engl J Med.* 2019 Aug;381(5):444–54.
  36. SAGE-WHO. Fractional dose yellow fever vaccine as a dose-sparing option for outbreak response WHO Secretariat information paper. 2016. p. 39.

37. Vannice K, Wilder-Smith A, Hombach J. Fractional-Dose yellow fever vaccination — advancing the evidence base. *New England Journal of Medicine*. 2018.
38. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, Mcshane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The american rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988 Mar;31(3):315–24.
39. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol*. 2004 Feb;31(2):390–2.
40. van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum*. 1984 Apr;27(4):361–8.
41. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: Development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*. 2006 Aug;54(8):2665–73.
42. Moll JMH, Wright V. Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 1973;
43. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* Sep, 1997 p. 1725.
44. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2013;
45. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and Dermatomyositis. *N Engl J Med*. 1975 Feb;292(7):344–7.
46. Kasukawa R, Sharp GC. Mixed Connective Tissue Disease and Anti-Nuclear Antibodies: Proceedings of the International Symposium on Mixed Connective Tissue Disease and Anti-Nuclear Antibodies, Tokyo, 29-30 August 1986. *Excerpta Medica*; 1987. 41–7 p. (International Congress Series).
47. Arend WP, Michel BA, Bloch DA, Hunder GG, Calabrese LH, Edworthy SM, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of takayasu arteritis. *Arthritis Rheum*. 2010 Aug;33(8):1129–34.
48. Leavitt RY, Fauci AS, Bloch DA, Michel BA, Hunder GG, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of wegener’s granulomatosis. *Arthritis Rheum*. 2010 Aug;33(8):1101–7.
49. Lightfoot RW, Michel BA, Bloch DA, Hunder GG, Zvaifler NJ, McShane DJ, et al. The American college of rheumatology 1990 criteria for the classification of polyarteritis nodosa. *Arthritis Rheum*. 1990;
50. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren’s syndrome: A revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2002.
51. Gladman DD, Ibañez D, Urowltz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002;

52. Consolaro A, Ruperto N, Bazso A, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Filocamo G, et al. Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009 May;61(5):658–66.
53. Lukas C, Landewé R, Sieper J, Dougados M, Davis J, Braun J, et al. Development of an ASAS-endorsed disease activity score (ASDAS) in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2009;
54. Mukhtyar C, Lee R, Brown D, Carruthers D, Dasgupta B, Dubey S, et al. Modification and validation of the Birmingham vasculitis activity score (version 3). *Ann Rheum Dis.* 2009;
55. Bode RK, Klein-Gitelman MS, Miller ML, Lechman TS, Pachman LM. Disease activity score for children with juvenile dermatomyositis: Reliability and validity evidence. *Arthritis Care Res.* 2003;
56. Lovell DJ, Lindsley CB, Rennebohm RM, Ballinger SH, Bowyer SL, Giannini EH, et al. Development of validated disease activity and damage indices for the juvenile idiopathic inflammatory myopathies: II. The Childhood Myositis Assessment Scale (CMAS): A quantitative tool for the evaluation of muscle function. *Arthritis Rheum.* 1999;
57. Rider LG, Koziol D, Giannini EH, Jain MS, Smith MR, Whitney-Mahoney K, et al. Validation of manual muscle testing and a subset of eight muscles for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Care Res.* 2010;
58. Seror R, Ravaud P, Bowman SJ, Baron G, Tzioufas A, Theander E, et al. EULAR Sjögren's syndrome disease activity index: Development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2010;
59. Seror R, Bowman SJ, Brito-Zeron P, Theander E, Bootsma H, Tzioufas A, et al. EULAR Sjögren's syndrome disease activity index (ESSDAI): A user guide. *RMD Open.* 2015;
60. Roukens AH, Soonawala D, Joosten SA, de Visser AW, Jiang X, Dirksen K, et al. Elderly Subjects Have a Delayed Antibody Response and Prolonged Viraemia following Yellow Fever Vaccination: A Prospective Controlled Cohort Study. Bausch DG, editor. *PLoS One.* 2011 Dec;6(12):e27753.
61. Silva ML, Martins MA, Espírito-Santo LR, Campi-Azevedo AC, Silveira-Lemos D, Ribeiro JGL, et al. Characterization of main cytokine sources from the innate and adaptive immune responses following primary 17DD yellow fever vaccination in adults. *Vaccine.* 2011 Jan;29(3):583–92.
62. Lindsey NP, Rabe IB, Miller ER, Fischer M, Staples JE. Adverse event reports following yellow fever vaccination, 2007–13. *J Travel Med.* 2016 May;23(5):taw045.
63. Huber F, Ehrensperger B, Hatz C, Chappuis F, Bühler S, Eperon G. Safety of live vaccines on immunosuppressive or immunomodulatory therapy—a retrospective study in three Swiss Travel Clinics. *J Travel Med.* 2018 Jan;25(1).
64. Croce E, Hatz C, Jonker EF, Visser LG, Jaeger VK, Bühler S. Safety of live vaccinations on immunosuppressive therapy in patients with immune-mediated inflammatory diseases, solid organ transplantation or after bone-marrow transplantation – A systematic review of randomized trials, observational studies and case re. *Vaccine.* 2017 Mar;35(9):1216–26.

65. de Menezes Martins R, da Luz Fernandes Leal M, Homma A. Serious adverse events associated with yellow fever vaccine. *Hum Vaccin Immunother.* 2015 Sep;11(9):2183–7.
66. Kohler S, Bethke N, Böthe M, Sommerick S, Frentsch M, Romagnani C, et al. The early cellular signatures of protective immunity induced by live viral vaccination. *Eur J Immunol.* 2012;
67. Colin De Verdiere N, Durier C, Samri A, Meiffredy V, Launay O, Matheron S, et al. Immunogenicity and safety of yellow fever vaccine in HIV-1-infected patients. *AIDS.* 2018 Aug;32(16):1.
68. Querec TD, Akondy RS, Lee EK, Cao W, Nakaya HI, Teuwen D, et al. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Nat Immunol.* 2009;
69. Muyanja E, Ssemaganda A, Ngauv P, Cubas R, Perrin H, Srinivasan D, et al. Immune activation alters cellular and humoral responses to yellow fever 17D vaccine. *J Clin Invest.* 2014;
70. Schutyser E, Struyf S, Van Damme J. The CC chemokine CCL20 and its receptor CCR6. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14(5):409–26.
71. Dong H, Zhang Y, Zou Y, Chen Y, Yue J, Liu H, et al. Elevated chemokines concentration is associated with disease activity in Takayasu arteritis. *Cytokine.* 2021;143(April).
72. Pournazari M, Feizollahi P, Roghani SA, Assar S, Soufivand P, Soleymani B, et al. Increased plasma levels of CCL20 in peripheral blood of rheumatoid arthritis patients and its association with clinical and laboratory parameters. *Clin Rheumatol.* 2022;41(1):265–70.
73. Lee AYS, Körner H. CC chemokine receptor 6 (CCR6) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunol Cell Biol.* 2020;98(10):845–53.

## Apêndice A – Modelo de Ficha de Entrevista (Ex. Controles)

### **PROJETO:**

**AVALIAÇÃO DA VACINA DA FEBRE AMARELA EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS COM BAIXO NÍVEL DE IMUNOSSUPRESSÃO E QUE RESIDEM EM ÁREA DE RISCO**

NOME DO CONTROLE:

\_\_\_\_\_

RG- HC: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ anos Data de nascimento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /

\_\_\_\_\_

Telefones: ( ) \_\_\_\_\_ , ( ) \_\_\_\_\_

Controle: ( ) adulto ( ) juvenil

**Dados da vacina:**

**Data:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ . **Lote:** \_\_\_\_\_

**Nome do responsável pela aplicação:**

\_\_\_\_\_

**Sexo:** ( )M ( )F

**Cor** (avaliação do médico): ( )Branco ( )Negro ( )Mulato ( )Asiático ( )Latino-americano

**Raça** (ancestrais referidos pelo pacientes até avós):

( )Caucasiano (ancestrais europeus) ( )Asiático (pelo menos 1 ancestral asiático)

( )Afro-latinoamericano (pelo menos 1 ancestral africano)

( )Outros ( )Desconhecido ( )Caucasiano + índio ( )Latino puro

### **AVALIAÇÃO CLÍNICA**

**Tabagismo prévio:** ( ) Sim ( ) Não

**Tabagismo atual:** ( ) Sim ( ) Não

**Dislipidemia:** ( ) Sim ( ) Não

**Doença arterial coronariana:** ( ) Sim ( ) Não

**Diabetes:** ( ) Sim ( ) Não

**Hipertensão arterial:** ( ) Sim ( ) Não

**Nº cigarros/dia:** \_\_\_\_\_.

Viajou nos últimos 30 dias? ( ) Sim ( ) Não

Para onde? \_\_\_\_\_, Data: \_\_\_\_\_

**Agendamentos:**

	D0	D5	D10	D 30-45	D365
DATA	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
<b>Critérios de Inclusão</b>					
a. Crianças maiores de 24 meses completos de idade, adolescentes e adultos até 60 anos incompletos com Doença reumatológica diagnosticada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
	Não	Sim			
b. Transitando em área de Risco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
	Não	Sim			
c. Disponível para comparecer às visitas D5-D10-D30 a 45	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
	Não	Sim			
d. Em uso de Baixa Imunossupressão:					
i. HCQ isolada ou com 1 associação abaixo					
ii. Sulfassalazina isolada ou com 1 associação abaixo	<input type="checkbox"/>	Não			
iii. Prednisona isolada até 20mg/dia (Em <18 anos: até 0,5mg/kg/dia, máximo 20mg/dia)	<input type="checkbox"/>	Sim			
iv. MTX até 0,4mg/Kg (máx de 20mg/sem) isolado ou associado com prednisona até 7,5mg/d					
v. Leflunomida até 20mg/d ou associado com prednisona até 7,5mg/d					
e. Concordância em participar do estudo conforme assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
	Não	Sim			

<b>Critérios de Exclusão</b>		
<b>SOMENTE PARA O SEXO FEMININO:</b> Gravidez (confirmada por teste $\beta$ hCG positivo), estar amamentando ou manifestar intenção de ter práticas sexuais com potencial reprodutivo sem uso de método contraceptivo nos 28 dias seguintes à vacinação.	<input type="checkbox"/> Não se aplica	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim
Evidência de doença reumatológica em atividade	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Imunodeficiência Primária	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Mora fora da área de Risco	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Recebeu Vacina de Febre amarela anteriormente	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
História de reação alérgica grave ou anafilaxia à ovo, à vacina ou seus componentes.	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
História de asplenia.	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Ter recebido hemoderivados (transfusões ou imunoglobulinas) nos últimos três meses antes da sua inclusão no estudo.	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Suspeita ou confirmação de febre nas 72 horas que antecedem à vacinação ou temperatura axilar superior a 37,8°C no dia da vacinação (a inclusão pode ser adiada até que o potencial participante complete 72 horas sem febre).	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Ter recebido vacina com vírus vivo atenuado nos últimos 28 dias ou vacina inativada nos últimos 14 dias que antecedem a sua inclusão no estudo,(Poderá agendar vacinação para febre amarela baseado nesses prazos)	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Indivíduos não aceitam participar do estudo e/ou cujos responsáveis não concordam em participar do estudo.	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim

Não preencher critérios de baixa imunossupressão

Não  Sim

O participante é elegível a receber a vacina fracionada para Febre Amarela?

Não  Sim

	D0	D5	D10	D 30-45	D365
<b>DATA</b>	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
<b>PESO</b>					
<b>ALTURA</b>					
<b>IMC</b>					
<b>MEDICAÇÃO</b>					
<b>LABORATÓRIO</b>					
Ureia					
Creatinina					
TGO					
TGP					
HB					
Leuco					
Neutro					
Linfo					
Plaquetas					
PCR					

**OUTROS MEDICAMENTOS:**

---

---

---

---

---

---

---

---

<b>QUEIXAS</b>	<b>D0</b>	<b>D5</b>	<b>D10</b>	<b>D 30-45</b>	<b>D365</b>
Dor muscular	( ) Sim ( ) Não				
Dor articular	( ) Sim ( ) Não				
Coceira	( ) Sim ( ) Não				
Vermelhidão no local de aplicação	( ) Sim ( ) Não				
Inchaço no local de aplicação	( ) Sim ( ) Não				
Hematoma /Manchas Roxas	( ) Sim ( ) Não				
Sangramento	( ) Sim ( ) Não				
Febre	( ) Sim ( ) Não				
Mal-estar	( ) Sim ( ) Não				
Náusea/Enjôo	( ) Sim ( ) Não				
Vômito	( ) Sim ( ) Não				
Diarréia	( ) Sim ____X/dia ( ) Não				
Tontura	( ) Sim ( ) Não				
Tremor	( ) Sim ( ) Não				
Dor de cabeça	( ) Sim ( ) Não				
Cansaço	( ) Sim ( ) Não				
Dor abdominal	( ) Sim ( ) Não				
Vermelhidão no corpo	( ) Sim ( ) Não				

OUTRAS QUEIXAS: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Quanto sua pior queixa prejudicou seu dia a dia?

( ) Nada ( ) Um pouco ( ) Muito ( ) Incapacitou

## Apêndice B - Diário de Sintomas

Para o médico que for avaliar este paciente:

Se suspeita de febre amarela vacinal grave com alteração de enzima hepática (10x o valor normal) ou com meningite ou meningoencefalite, entrar em contato imediatamente com o Plantão Controlador do Hospital das Clínicas (HC) da FMUSP (Tel. 2661-6570)

# PROTOCOLO VACINA FEBRE AMARELA 2018

PACIENTES REUMATOLÓGICOS  
HC da FMUSP

ETIQUETA

PACIENTE COM ENTRADA AUTORIZADA NO  
PERÍODO: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ A \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ NA  
REUMATOLOGIA (PAMB 5º. ANDAR-BLOCO 4A) DE  
2ª. A 6ª. FEIRA DAS 7H30 ÀS 15H30.

QUEIXAS	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Dor nos músculos	( ) Sim ( ) Não				
Dor nas juntas	( ) Sim ( ) Não				
Coceira	( ) Sim ( ) Não				
Vermelhidão no local de aplicação	( ) Sim ( ) Não				
Inchaço no local de aplicação	( ) Sim ( ) Não				
Hematoma /Manchas roxas	( ) Sim ( ) Não				
Sangramento	( ) Sim ( ) Não				
Febre	( ) Sim ( ) Não				
Mal-estar	( ) Sim ( ) Não				
Náusea/Enjôo	( ) Sim ( ) Não				
Vômito	( ) Sim ( ) Não				
Tontura	( ) Sim ( ) Não				
Tremor	( ) Sim ( ) Não				
Dor de cabeça	( ) Sim ( ) Não				
Cansaço	( ) Sim ( ) Não				
Dor abdominal	( ) Sim ( ) Não				
Vermelhidão no corpo	( ) Sim ( ) Não				

OUTRAS QUEIXAS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

	Data	Procedimento	Comparecimento
Dia 0	/ /	Coleta + Vacina +Avaliação Clínica	
Dia 5	/ /	Coleta	
Dia 10	/ /	Coleta	
Dia 30-45	/ /	Coleta + Avaliação Clínica	
Dia 365	/ /	Coleta	

### Orientações

- 1) Preencher a tabela de queixas ao lado.
- 2) Caso tenha mal estar intenso, vomitos, dor na barriga ou dor de cabeça intensa, procurar serviço de pronto atendimento próximo da residência para avaliação médica e de necessidade de transferência para o HC da FMUSP.
- 3) Se os sintomas forem leves, apenas utilizar dipirona conforme receita médica e relatar as queixas ao lado.

Comprovante  
de vacinação

DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
LOTE: \_\_\_\_\_

Apêndice C- TCLE Controle Saudável

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**CONTROLE SAUDÁVEL - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

---

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO: ..... Nº: ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2. RESPONSÁVEL LEGAL: .....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.): .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO: ..... Nº: ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

---

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

**PROJETO TEMÁTICO: Avaliação da vacina da febre amarela fracionada em pacientes com doenças reumatológicas com baixo nível de imunossupressão e que residem em área de alto risco**

## 2. PESQUISADOR PRINCIPAL:

ELOISA BONFA

Cargo/ Função: Profa. Titular da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina do HC-FMUSP.  
Inscrição no Conselho Regional Nº: 42.708

Unidade do HC-FMUSP: Disciplina de Reumatologia do HCFMUSP

## 3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO  RISCO MAIOR

## 4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 12 meses

**INTRODUÇÃO:** Você está sendo convidado a participar dessa pesquisa por estar em programação de receber a vacina contra Febre Amarela por residir em área de alto risco sem possibilidade de afastamento temporário.

As informações sobre o estudo estão detalhadas nesse documento e lhe serão explicadas pelos pesquisadores, que responderão qualquer dúvida. Pedimos a você que leia este termo com atenção e se sinta livre para fazer qualquer pergunta que lhe surgir a respeito do mesmo.

### PROPÓSITO DO ESTUDO:

Segundo a Organização Mundial da Saúde, desde Dezembro de 2016, o Brasil está apresentando um aumento significativo de casos de Febre Amarela em humanos. Diante desse quadro, a vacinação está indicada para os residentes e viajantes para áreas de risco. Estamos convidando você a participar deste estudo para entender melhor como é a sua resposta à vacina da Febre Amarela com dose fracionada. Dessa forma, estamos convidando você a participar deste estudo para entender melhor como é a sua resposta à vacina da Febre Amarela e assim, ser um paciente controle em comparação com pacientes com alguma doença reumatológica (artrite reumatoide, espondilite anquilosante, artrite psoriásica, artrite idiopática juvenil, dermatomiosite adulto, poliomiosite, dermatomiosite juvenil, esclerose sistêmica, doença mista do tecido conectivo, lúpus eritematoso sistêmico, vasculites sistêmicas, síndrome de Sjögren primária).

**CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:** Poderão participar desse estudo pacientes que irão receber a vacina da Febre Amarela por residirem em área de alto risco para Febre amarela sem possibilidade de afastamento temporário. A sua participação é voluntária e se o Sr.(a) não desejar participar, ou quiser sair do estudo, isso não mudará em nada o seu seguimento no Hospital. Serão aceitos no estudo apenas os pacientes que concordarem em assinar esse documento.

**CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:** Não poderão participar do estudo os pacientes que: apresentem história de alergia aos componentes da vacina; tenham recebido anteriormente a vacina da Febre Amarela; tenham recebido outra vacina de vírus vivo até 1 mês antes; estejam com alguma infecção; morem fora da área de risco ou estejam tomando altas doses de medicações que reduzem a imunidade.

**PROCEDIMENTOS:** Caso você concorde em participar desse protocolo, serão colhidos exames de sangue (20 mL – menos que uma xícara de café) em 4 momentos: antes de receber a vacina, após 5 dias, 10 dias, 30 dias e 365 dias. O sangue será colhido somente para se estudar a resposta a essa vacina em pacientes com doenças reumatológicas. Essa resposta é medida através da dosagem de anticorpos, que são substâncias produzidas pelas células de defesa do corpo. Não há procedimentos, exames ou remédios experimentais. Lembre-se de que todos os exames que forem feitos neste estudo são para fins de pesquisa.

**RISCOS E DESCONFORTOS:** Poderá ocorrer um pouco de dor ou inchaço no local da coleta de sangue. Riscos da vacina (1 para 400 000 doses em estudos populacionais) podem apresentar doença grave com sintomas parecidos com os da febre amarela grave, tais como hemorragia, choque, falência de órgãos e morte.

Se você tiver alguma reação, procure um hospital perto de sua residência e peça para entrar em contato com o plantão controlador do Hospital das Clínicas FMUSP (Tel 26616570), conforme orientação do folheto em anexo.

**PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA/ SAÍDA DO ESTUDO:** A sua participação é completamente voluntária, ou seja, o Sr.(a) pode decidir participar ou não deste estudo e também é livre para deixar o estudo a qualquer momento, sem que exista qualquer prejuízo ou perda de seus direitos de seguimento e tratamento no Hospital.

Se o Sr.(a) decidir participar, deve assinar esse consentimento informado (última folha) e rubricar (fazer uma pequena assinatura) em todas as outras folhas. Uma via será fornecida ao Sr.(a) e a outra será guardada pelo pesquisador. Se decidir não participar do estudo, ou sair dele, essa decisão não terá nenhuma influência sobre seus futuros cuidados médicos.

**BENEFÍCIOS:** O principal benefício é saber se a resposta à dose fracionada (reduzida) da vacina da Febre Amarela é adequada. Além disto, a resposta vacinal (imunogenicidade) para cada paciente será estudada. O participante será revacinado, portanto receberá duas doses fracionadas da vacina da febre amarela. Não existem benefícios financeiros nem para o Sr.(a), nem para os pesquisadores. O Sr.(a) será informado de todos resultados de exames.

**CONFIDENCIALIDADE:** Essa pesquisa é confidencial e seus dados pessoais não serão revelados, em qualquer hipótese a outras pessoas. O sigilo do estudo só será quebrado nos casos em que houver autorização legal para fazê-lo. Os resultados desse estudo poderão ser apresentados em congressos ou em publicações científicas, mas a sua identidade será sempre preservada. Os dados coletados nesse estudo serão utilizados apenas para essa pesquisa.

**INTERESSES COMERCIAIS:** O estudo será gratuito. Como não existem interesses econômicos ou financeiros por parte das instituições participantes, não se espera que você, sua família ou qualquer um dos pesquisadores recebam pagamento algum por participar do mesmo.

**MAIS INFORMAÇÕES:** Esse consentimento foi aprovado pelo Comitê de Ética, Ensino e Pesquisa dessa instituição. Se você tiver perguntas adicionais referentes à pesquisa ou quaisquer outras dúvidas ou sintomas, por favor, entre em contato com: Profa. Dra.

Eloisa Bonfa, Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira, Dra. Luciana Parente Costa Seguro ou Dra Nádia Emi Aikawa, nos endereços e telefones abaixo:

- Endereço: Faculdade de Medicina da USP

Av. Dr. Arnaldo, N º 455 – 3º andar, sala 3150. Cerqueira César, São Paulo/SP. CEP: 01246-903

- Telefones: (11) 3061-7492 / (11) 3061-7490 (Secretaria da Disciplina de Reumatologia, Faculdade de Medicina da USP) (11) 2661-6105 (Ambulatório do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP)

- Email: reumato@usp.br

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética dessa pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em

Pesquisa (C.E.P.) no seguinte endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar. Tel: (11) 2661-7585. E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo

**“Avaliação da vacina da febre amarela fracionada em pacientes com doenças reumatológicas com baixo nível de imunossupressão e que residem em área de alto risco”.**

Eu discuti com a **Profa. Dra. Eloisa Bonfa** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar desse estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento nesse Serviço.

-----  
Assinatura do paciente/ representante legal                      Data:   /  /  

-----  
Assinatura da testemunha    Data:   /  /  

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido desse paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

-----  
Assinatura do responsável pelo estudo                              Data:   /  /

Apêndice D – TCLE Paciente

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**PACIENTE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

---

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO: ..... Nº: ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2. RESPONSÁVEL LEGAL: .....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.): .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO: ..... Nº: ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

---

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

**PROJETO TEMÁTICO: Avaliação da vacina da febre amarela fracionada em pacientes com doenças reumatológicas com baixo nível de imunossupressão e que residem em área de alto risco**

2. PESQUISADOR PRINCIPAL:

ELOISA BONFA

Cargo/ Função: Profa. Titular da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina do HC-FMUSP.  
Inscrição no Conselho Regional Nº: 42.708

Unidade do HC-FMUSP: Disciplina de Reumatologia do HCFMUSP

### 3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO  RISCO MAIOR

### 4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 12 meses

**INTRODUÇÃO:** Você está sendo convidado a participar dessa pesquisa por ter uma doença reumatológica (artrite reumatoide, espondilite anquilosante, artrite psoriásica, artrite idiopática juvenil, dermatomiosite adulto, poliomiosite, dermatomiosite juvenil, esclerose sistêmica, doença mista do tecido conectivo, lúpus eritematoso sistêmico, vasculites sistêmicas, síndrome de Sjögren primária) e estar em programação de receber a vacina contra Febre Amarela por residir em área de alto risco sem possibilidade de afastamento temporário.

As informações sobre o estudo estão detalhadas nesse documento e lhe serão explicadas pelos pesquisadores, que responderão qualquer dúvida. Pedimos a você que leia este termo com atenção e se sinta livre para fazer qualquer pergunta que lhe surgir a respeito do mesmo.

#### **PROPÓSITO DO ESTUDO:**

Segundo a Organização Mundial da Saúde, desde Dezembro de 2016, o Brasil está apresentando um aumento significativo de casos de Febre Amarela em humanos. Diante desse quadro, a vacinação está indicada para os residentes e viajantes para áreas de risco. Por causa dos remédios que você toma e da sua doença, existe um risco de complicações ao receber vacinas com vírus vivos atenuados, como a Febre Amarela. Como você tem uma doença reumatológica e/ou usa medicamentos que alteram a imunidade, estamos convidando você a participar deste estudo para entender melhor como é a sua resposta à vacina da Febre Amarela na dose fracionada.

**CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:** Poderão participar desse estudo pacientes com doenças reumatológicas (artrite reumatoide, espondilite anquilosante, artrite psoriásica, artrite idiopática juvenil, dermatomiosite adulto, poliomiosite, dermatomiosite juvenil, esclerose sistêmica, doença mista do tecido conectivo, lúpus eritematoso sistêmico, vasculites sistêmicas, síndrome de Sjögren primária) que usem baixas doses de medicações que reduzem a imunidade e que irão receber a vacina da Febre Amarela por residirem em área de alto risco para Febre amarela sem possibilidade de afastamento temporário. A sua participação é voluntária e se o Sr.(a) não desejar participar, ou quiser sair do estudo, isso não mudará em nada o seu seguimento no Hospital. Serão aceitos no estudo apenas os pacientes que concordarem em assinar esse documento.

**CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:** Não poderão participar do estudo os pacientes que: apresentem história de alergia aos componentes da vacina; tenham recebido anteriormente a vacina da Febre Amarela; tenham recebido outra vacina de vírus vivo até 1 mês antes; estejam com alguma infecção; morem fora da área de risco ou estejam tomando altas doses de medicações que reduzem a imunidade.

**PROCEDIMENTOS:** O médico responsável pelo seu tratamento continuará sendo o mesmo. Ele indicará exames, orientará o tratamento e o acompanhará em caso de complicações. Caso você concorde em participar desse protocolo, você autoriza a coleta de dados em seu prontuário, respeitados o anonimato e confidencialidade das suas informações, e, serão colhidos exames de sangue (20 mL – menos que uma xícara de café) em 4 momentos: antes de receber a vacina, após 5 dias, 10 dias, 30 dias e 365 dias. O sangue será colhido somente para se estudar a resposta a essa vacina em pacientes com doenças reumatológicas. Essa resposta é medida através da dosagem de anticorpos, que são substâncias produzidas pelas células de defesa do corpo. Não há procedimentos, exames ou remédios experimentais. Lembre-se de que todos os exames que forem feitos neste estudo são para fins de pesquisa.

**RISCOS E DESCONFORTOS:** Poderá ocorrer um pouco de dor ou inchaço no local da coleta de sangue. Riscos da vacina (1 para 400 000 doses em estudos populacionais) podem apresentar doença grave com sintomas parecidos com os da febre amarela grave, tais como hemorragia, choque, falência de órgãos e morte.

Se você tiver alguma reação, procure um hospital perto de sua residência e peça para entrar em contato com o plantão controlador do Hospital das Clínicas FMUSP (Tel 26616570), conforme orientação do folheto em anexo.

**PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA/ SAÍDA DO ESTUDO:** A sua participação é completamente voluntária, ou seja, o Sr.(a) pode decidir participar ou não deste estudo e também é livre para deixar o estudo a qualquer momento, sem que exista qualquer prejuízo ou perda de seus direitos de seguimento e tratamento no Hospital.

Se o Sr.(a) decidir participar, deve assinar esse consentimento informado (última folha) e rubricar (fazer uma pequena assinatura) em todas as outras folhas. Uma via será fornecida ao Sr.(a) e a outra será guardada pelo pesquisador. Se decidir não participar do estudo, ou sair dele, essa decisão não terá nenhuma influência sobre seus futuros cuidados médicos.

**BENEFÍCIOS:** O principal benefício é saber se a resposta à dose fracionada (reduzida) da vacina da Febre Amarela é adequada. Além disto a resposta vacinal (imunogenicidade) para cada paciente será estudada. O participante será revacinado, portanto receberá duas doses fracionadas da vacina da febre amarela. Não existem benefícios financeiros nem para o Sr.(a), nem para os pesquisadores. O Sr.(a) será informado de todos resultados de exames.

**CONFIDENCIALIDADE:** Essa pesquisa é confidencial e seus dados pessoais não serão revelados, em qualquer hipótese a outras pessoas. O sigilo do estudo só será quebrado nos casos em que houver autorização legal para fazê-lo. Os resultados desse estudo poderão ser apresentados em congressos ou em publicações científicas, mas a sua identidade será sempre preservada. Os dados coletados nesse estudo serão utilizados apenas para essa pesquisa.

**INTERESSES COMERCIAIS:** O estudo será gratuito. Como não existem interesses econômicos ou financeiros por parte das instituições participantes, não se espera que você, sua família ou qualquer um dos pesquisadores recebam pagamento algum por participar do mesmo.

**MAIS INFORMAÇÕES:** Esse consentimento foi aprovado pelo Comitê de Ética, Ensino e Pesquisa dessa instituição. Se você tiver perguntas adicionais referentes à pesquisa ou quaisquer outras dúvidas ou sintomas, por favor, entre em contato com: Profa. Dra. Eloisa Bonfa, Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira, Dra. Luciana Parente Costa Seguro ou Dra Nádia Emi Aikawa, nos endereços e telefones abaixo:

- Endereço: Faculdade de  
Medicina da USP

Av. Dr. Arnaldo, N<sup>o</sup> 455 – 3<sup>o</sup> andar, sala 3150. Cerqueira César, São Paulo/SP. CEP: 01246-903

- Telefones: (11) 3061-7492 / (11) 3061-7490 (Secretaria da Disciplina de Reumatologia, Faculdade de Medicina da USP) (11) 2661-6105 (Ambulatório do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP)

- Email:  
reumato@usp.br

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética dessa pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em

Pesquisa (C.E.P.) no seguinte endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5<sup>o</sup> andar. Tel: (11) 2661-7585. E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

