

FRANCISCO FELLIPE CLAUDINO FORMIGA

**Avaliação da imunogenicidade e segurança do componente
Influenza A(H3N2)/Singapore em pacientes com lúpus
eritematoso sistêmico**

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

**São Paulo
2024**

FRANCISCO FELLIPE CLAUDINO FORMIGA

**Avaliação da imunogenicidade e segurança do componente
Influenza A(H3N2)/Singapore em pacientes com lúpus
eritematoso sistêmico**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Programa de Pós-Graduação em
Ciências do Sistema
Musculoesquelético.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo
Ferreira Borba Neto

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

**São Paulo
2024**

**FICHA CATALOGRÁFICA
BIBLIOTECA USP**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Formiga, Francisco Fellipe Claudino
Avaliação da imunogenicidade e segurança do
componente Influenza A(H3N2)/Singapore em pacientes
com lúpus eritematoso sistêmico / Francisco Fellipe
Claudino Formiga. -- São Paulo, 2023.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.
Orientador: Eduardo Ferreira Borba Neto.

Descritores: 1.Lúpus eritematoso sistêmico
2.Influenza humana 3.Vacinas 4.Segurança 5.Doenças
preveníveis por vacina 6.Imunidade

USP/FM/DBD-399/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedico esta tese à minha família: à minha mãe, Tânia, ao meu pai, Elisbão, e à minha irmã, Raquell.

Agradeço por sempre terem confiado em mim e no meu potencial. Sem o apoio e incentivo de vocês, não teria chegado tão longe.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por iluminar e abençoar o meu caminho. Glória a Deus por esta jornada e esta conquista.

Destaco inicialmente, o Prof. Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto, que me orientou durante todo o período do doutorado, sempre disposto a me ensinar e presente na elaboração de todas as etapas deste trabalho. Agradeço toda disposição dedicada a mim e ao nosso trabalho, seu auxílio foi fundamental.

Minha gratidão especial à Prof.^a Dr.^a Eloisa Bonfá, por ter confiado em mim e em minha capacidade, por ter me permitido integrar sua equipe nos projetos temáticos. Obrigado pelo apoio, inclusive, além dos limites da área da pesquisa.

Aos Prof. Dr. Clóvis, Dr.^a Sandra, Dr.^a Nádia e a todos assistentes e doutores do serviço de Reumatologia do HCFMUSP. Obrigado pelo convívio, acolhimento, intercâmbio e por vivenciar o cotidiano do serviço de Reumatologia do HCFMUSP.

À Dr.^a Tatiana Pedrosa, você foi excepcional comigo desde o nosso primeiro contato no ambulatório, agradeço o esmero e paciência que teve em meu ajudar na construção deste trabalho. Hoje também posso agradecer a Deus por sua amizade.

Em nome da Dr.^a Cristiana Couto Garcia e de Artur da Silva Vidal Capão agradeço à equipe do Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampos da FIOCRUZ pelo cuidado e presteza no manuseio e análise das amostras do estudo.

Às biólogistas do Laboratório de Investigação Médica – 17 (LIM-17), Elaine e Margarete, agradeço a disponibilidade e colaboração na pesquisa.

Agradeço aos amigos e colegas doutorandos que fiz durante esta jornada, Lorena Villamarín, Victor Martins, Debora Rosário, Dilson Marreiros, Juliana Valim, Isabella Bertoglio, Letícia Brandão, Gabriela Munhoz, obrigado pelo carinho e parceria durante todo este tempo e por manterem sempre um ambiente de estudo e pesquisa leve e descontraído.

À, Carolina Ribeiro, aluna de iniciação científica, pelo interesse e dedicação demonstrados em aprender e fazer ciência.

A todos residentes de Reumatologia da turma de 2019, em especial Lorenza Silvério, pelo acolhimento e incentivo durante o período que estive com vocês no meu estágio externo ainda durante a minha residência. Vocês deram o pontapé inicial para que tivesse coragem de ingressar no serviço e na pós-graduação.

Aos residentes de Reumatologia do período em que estive no ambulatório (entre 2019 e 2021) que se dispuseram em me ajudar no atendimento clínico e coleta de dados dos projetos temáticos que estive envolvido.

Gostaria de deixar um agradecimento também às secretárias da disciplina de Reumatologia, do ambulatório de Reumatologia e do programa de pós-graduação, por toda colaboração desde o meu ingresso no doutorado até à construção e depósito desta tese.

Agradeço à minha família, especialmente à minha mãe, por ser fonte inesgotável de amor, apoio e carinho que foram essenciais para que eu chegasse até aqui. Vocês são tudo para mim.

Aos familiares que me acolherem desde o início da minha vida acadêmica: tia Salete, tia Fafá, vovó Mariquinha (*in memoriam*), tia Maria Amélia, tio Germânio Moura, tia Inez e João Bosco. Com vocês tive muito mais que um lar, aprendi sobre caráter, resiliência e empatia.

Aos meus amigos, obrigado por estarem sempre presentes e pela compreensão nos diversos momentos em que precisei me ausentar em função da dedicação à pós-graduação. Muito obrigado pela amizade, fidelidade e por terem me acompanhado nessa jornada. Agradeço a torcida e vibração em cada conquista.

Por fim, gostaria de agradecer a todos os pacientes do ambulatório de lúpus eritematoso sistêmico do Hospital das Clínicas (HCFMUSP) e aos indivíduos controles que participaram deste estudo. Agradeço pela disposição em contribuir com a produção científica, em especial para esta tese. Espero que o conhecimento gerado aqui possa ser aplicado de maneira positiva e benéfica na assistência de todos vocês.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)** pelo financiamento desta pesquisa. Este estudo foi apoiado por bolsas da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP nº 2018/16162-3 para Eduardo Ferreira Borba Neto, nº 2015/03756-4 para Clóvis Artur Almeida da Silva, Sandra Gofinet Pasoto, Nádía Emi Aikawa e Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, nº 2010/10749-0 para Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, nº 2017/14352-7 para Tatiana do Nascimento Pedrosa) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 306879/2018-2 para Eduardo Ferreira Borba Neto, nº 304984/2020-5 para Clóvis Artur Almeida da Silva e nº 305242 /2019-9 para Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá).

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de abreviaturas e siglas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	15
2. OBJETIVOS.....	22
3. PACIENTES E MÉTODOS.....	23
3.1. Desenho do estudo, pacientes e controles e critérios de exclusão	23
3.2. Protocolo de estudo.....	25
3.3. Vacina	25
3.4. Ensaio de Imunogenicidade Vacinal	26
3.5. Avaliação de segurança vacinal	26
3.6. Avaliação de dados demográficos, clínicos, laboratoriais, atividade de doença e terapia farmacológica	27
3.7. Análise estatística.....	27
4. RESULTADOS.....	29
4.1. Avaliação demográfica, características clínicas, laboratoriais, atividade de doença e terapia farmacológica	29
4.2. Avaliação da Imunogenicidade	30
4.3. Impacto da terapia medicamentosa e atividade de doença	31
4.4. Vacinação prévia contra influenza	31
4.5. Segurança vacinal	32
5. DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXOS.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxo de pacientes com LES (A) e indivíduos controle (B).254

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Recomendações da Organização Mundial de Saúde para composição da vacina trivalente contra influenza no Hemisfério Sul de 1999 a 2022 18

Tabela II. Escore de atividade de doença (SLEDAI-2K) e medicações em uso nos pacientes com LES na avaliação inicial (d0) e no fim do estudo (d30)30

Tabela III. Dados sorológicos de indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e controles saudáveis (CS) antes (d0) e após (d30) a vacinação contra influenza A(H3N2)/Singapore.....31

Tabela IV. Eventos adversos após a vacinação contra influenza em indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e controles (CS).....32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAPPesq: Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

CS: controles saudáveis

D0: Visita inicial no estudo

D30: Visita após 30 dias no estudo

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

EULAR: European Alliance of Associations for Rheumatology

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FI-GMT: *factor-increases in the geometric mean titer*

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

G: grama

GMT: *geometric mean titer*

HCFMUSP: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

HIA: *hemagglutination inhibition assay*

IC: intervalo de confiança

IV: intravenosa

Kg: quilograma

LES: lúpus eritematoso sistêmico

LLDAS: *lupus low disease activity state*

Mg: miligrama

MS: Ministério da Saúde

OMS: Organização Mundial de Saúde

RDE: *Receptor Destroying Enzyme*

SC: soroconversão

SLEDAI-2K: *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*

SLICC: *Systemic Lupus International Collaborating Clinics*

SP: soroproteção

RNA: Ribonucleic acid

RESUMO

Formiga FFC. *Avaliação da imunogenicidade e segurança do componente Influenza A(H3N2)/Singapore em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico* [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

INTRODUÇÃO: O vírus Influenza A(H3N2) tem sido a principal causa de adoecimentos e óbitos relacionados à influenza sazonal nos últimos 50 anos, superando o impacto do H1N1. Há uma falta de dados sobre a imunogenicidade e segurança deste componente da vacina em indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico (LES). Os estudos disponíveis sobre este tema são escassos e envolvem apenas estudos menores com outras cepas de H3N2. **OBJETIVO:** Este estudo tem como objetivo avaliar a imunogenicidade a curto prazo e a segurança da vacina influenza A/Singapore (H3N2) em indivíduos com LES. **MÉTODOS:** Um total de 81 pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e 81 indivíduos saudáveis (CS) pareados por idade foram vacinados para o vírus influenza A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2). O estudo avaliou as taxas de soroproteção (SP) e soroconversão (SC), bem como títulos médios geométricos (GMT) e fator de aumento em GMT (FI-GMT) após a vacinação. Eventos adversos também foram registrados. Os pesquisadores também avaliaram a atividade da doença e o tratamento em vigência dos pacientes com LES. **RESULTADOS:** Antes da imunização, os grupos LES e controles saudáveis (CS) apresentaram altas taxas de soroproteção (89% vs. 77%, $p=0,061$) e níveis elevados de título de GMT, indivíduos com LES apresentaram níveis mais elevados do que CS [129,1 (104,1-154,1) vs. 54,8 (45,0–64,6), $p<0,001$]. A frequência de vacinação contra influenza nos últimos dois anos foi alta e semelhante nos grupos LES e controles (89% vs. 90%, $p=1,000$). Após quatro semanas de vacinação, a mediana de GMT aumentou para ambos os grupos e permaneceu maior no LES em comparação com o grupo controle [239,9 (189,5-290,4) vs. 94,5 (72,6-116,4), $p<0,0001$], com um FI-GMT semelhante [2,3 (1,8-2,9) vs. 1,9 (1,5-2,3), $p=0,061$]. As taxas de soroconversão foram baixas e semelhantes em ambos os grupos (16% vs. 11%, respectivamente, $p=0,974$).

Os escores de atividade da doença permaneceram estáveis ao longo do estudo ($p=1,000$), e nenhum evento adverso grave foi relatado. **CONCLUSÃO:** A vacina contra influenza A/Singapore (H3N2) apresenta perfil de segurança adequado. O padrão de imunogenicidade distinto de outros componentes da influenza A é caracterizado por uma SC notavelmente baixa, embora com alta taxa de SP pós-vacinação e altos níveis de GMT. Este achado pode estar associada à vacinação anterior contra influenza A. (www.clinicaltrials.gov, NCT03540823).

Descritores: Lúpus Eritematoso Sistêmico; Influenza Humana; Vacinas, Segurança; Doenças Preveníveis por Vacina; Imunidade

SUMMARY

Formiga FFC. *Evaluation of the immunogenicity and safety of the Influenza A(H3N2)/Singapore component in patients with systemic lupus erythematosus* [PhD thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

INTRODUCTION: The Influenza A(H3N2) virus has been the leading cause of seasonal influenza-related illnesses and deaths in the past 50 years, surpassing the impact of H1N1. There is a lack of data on the immunogenicity and safety of this vaccine component in people with systemic lupus erythematosus (SLE). The available studies on this topic are limited and only involve minor studies with other H3N2 strains. **OBJECTIVE:** This study aims to assess the short-term immunogenicity and safety of the influenza A/Singapore (H3N2) vaccine in individuals with SLE. **METHODS:** A total of 81 patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and 81 healthy controls (HC) of the same age were given a vaccination for influenza A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2)-like virus. The study measured the rates of seroprotection (SP) and seroconversion (SC), as well geometric mean titers (GMT) and factor increase in GMT (FI-GMT) after vaccination. Adverse events were also recorded. The researchers also evaluated the disease activity and treatments of the SLE patients. **RESULTS:** Before immunization, the SLE and HC groups had high rates of seroprotection (89% vs. 77%, $p=0.061$) and elevated levels of GMT titer, with SLE having higher levels than HC [129.1 (104.1-154.1) vs. 54.8 (45.0–64.6), $p<0.001$]. The frequency of influenza vaccination in the previous two years was high and similar in both SLE and HC groups (89% vs. 90%, $p=1.000$). After four weeks of vaccination, the median GMT increased for both groups and remained higher in SLE compared to HC [239.9 (189.5-290.4) vs. 94.5 (72.6-116.4), $p<0.0001$], with a similar FI-GMT [2.3 (1.8-2.9) vs. 1.9 (1.5-2.3), $p=0.061$]. The rates of seroconversion were low and similar in both groups (16% vs. 11%, respectively, $p=0.974$). The disease activity scores remained stable throughout the study ($p=1.000$), and no severe adverse events were reported. **CONCLUSION:** Influenza A/Singapore (H3N2) vaccine has an adequate safety profile. The distinct immunogenicity pattern from other

influenza A components characterized by a remarkably low SC, although with high post-vaccination SP rate and high GMT levels. This finding may be associated with previous influenza A vaccination. (www.clinicaltrials.gov, NCT03540823).

Descriptors: Lupus Erythematosus, Systemic; Influenza, Human; Vaccines; Safety; Vaccine-Preventable Diseases; Immunity

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A influenza é uma infecção respiratória sazonal que afeta anualmente cerca de 5 a 15% da população global [1]. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que a infecção por influenza seja responsável por cerca de 290 a 650 mil mortes anuais no mundo. É importante notar que indivíduos imunocomprometidos com infecção por influenza correm maior risco de desenvolverem uma doença grave [2].

Os vírus da influenza pertencem à família Orthomyxoviridae e possuem material genético em RNA de fita simples segmentado [3]. Existem três grandes grupos de vírus da influenza sazonal, rotulados tipos A, B e C, sendo os A e B com maior relevância para o ser humano [2].

Os subtipos de influenza A são classificados de acordo com a combinação de duas proteínas de superfície: hemaglutinina e neuraminidase [4]. A influenza A é classificada em diversos subtipos, na qual os A (H1N1) e A (H3N2) são os maiores causadores de infecções por influenza em humanos. Os subtipos de influenza A ainda podem ser subdivididos em grupos (clados) e subgrupos (subclados). Clados e subclados são apresentados em árvores filogenéticas como agrupamentos de vírus que geralmente possuem alterações genéticas semelhantes [4].

O vírus influenza B apresenta duas linhagens: Victoria e Yamagata. Assim como os vírus influenza A, os vírus influenza B também pode ser subdivididos em grupos (clados) e subgrupos (subclados) [4].

Já as cepas virais são denominadas conforme o tipo antigênico, região geográfica de isolamento viral, número do cultivo da cepa e ano de sua identificação. Por exemplo, "A/Beijing/262/95" é uma cepa de influenza A, identificada em Beijing, no ano de 1995 [5].

Do ponto de vista do registro histórico, existem registros da circulação, em populações humanas, do subtipo H3N2 do vírus influenza A identificado desde 1968 [6], na ocasião o subtipo H3N2 foi responsável por uma pandemia que provocou mais de um milhão de óbitos [7]. No início do século XXI, durante os

anos de 2003 e 2004, epidemias de influenza A foram responsáveis por infecções com elevadas taxas de morbidade e mortalidade [8].

Isso mostra que a plasticidade evolutiva do subtipo H3N2 tem permitido o surgimento de novas variantes com capacidade para provocar surtos e epidemias [9]. Recentemente, o componente influenza A (H3N2) foi o que mais causou alerta durante a temporada 2017/2018 nos Estados Unidos [10], em determinados países europeus (2016/2017) [11] e no Brasil (2003 e 2017) [12,13], por ser o subtipo predominante de influenza e estar associado ao aumento das taxas de hospitalização.

Ao contrário dos anos anteriores, durante a pandemia de COVID-19, inicialmente foi registrada uma menor circulação do vírus influenza [14,15], possivelmente em decorrência das medidas de distanciamento social e campanhas para uso de máscara [14]. Porém, no segundo semestre de 2021, no intervalo entre os picos de circulação das variantes Delta e Ômicron SARS-CoV-2, diversas regiões registraram surtos de infecção por H3N2 [16-21], que foram associadas, por pesquisadores, ao relaxamento das medidas sanitárias contra a COVID-19 [21].

Um fato que destaca a relevância do vírus influenza A (H3N2) é que nos últimos 50 anos as hospitalizações mundiais por este vírus foram mais que o dobro dos números da influenza A (H1N1). Em um recorte recente a H3N2 tem manifestado a maior gravidade nas últimas duas décadas, excetuado a pandemia de H1N1 em 2009 [22].

Até o presente momento, a vacinação é a melhor forma de prevenir infecções e reduzir as complicações graves oriundas da infecção por influenza, principalmente entre pacientes imunossuprimidos [23].

É importante ressaltar que pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) apresentam um elevado risco de adquirir infecções, devido à redução da resposta imune a patógenos como consequência da disfunção imune da própria doença e devido ao uso de drogas imunossupressoras [24], o que resulta em alta morbimortalidade [24-26].

No Brasil, a vacinação contra o vírus influenza foi instituída pelo Ministério da Saúde em 1999, inicialmente para indivíduos a partir de 65 anos de idade [27]. Já no ano 2000 o programa de vacinação foi expandido para pessoas a

partir de 60 anos e no ano de 2014 os pacientes imunossuprimidos foram incluídos no programa oficial de vacinação contra influenza [28].

A Liga Europeia contra o Reumatismo (EULAR) [23] recomenda a vacinação anual contra influenza em pacientes com doenças reumáticas autoimunes, particularmente em pacientes com LES. A plasticidade genética do vírus influenza requer monitoramento global contínuo e reformulação frequente da composição das vacinas desenvolvidas contra influenza recomendadas pela OMS [29]. Anualmente a composição da vacina contra influenza é atualizada com formulações específicas para fabricação e utilização no Hemisfério Norte e Hemisfério Sul [29] (**Tabela I**).

Tabela I - Recomendações da Organização Mundial de Saúde para composição da vacina trivalente contra influenza no Hemisfério Sul de 1999 a 2022

Ano	Composição Vacinal
1999	A/Beijing/262/95 (H1N1)-like virus A/Sydney/5/97 (H3N2)-like virus B/Beijing/184/93-like virus
2000	A/New Caledonia/20/99 (H1N1)-like virus A/Moscow/10/99 (H3N2)-like virus; B/Beijing/184/93-like virus ou B/Shangdong/7/97-like virus
2001	A/New Caledonia/20/99 (H1N1)-like virus A/Moscow/10/99 (H3N2)-like virus B/Sichuan/379/99-like virus
2002	A/Moscow/10/99(H3N2)-like virus A/New Caledonia/20/99(H1N1)-like virus B/Sichuan/379/99-like virus
2003	A/New Caledonia/20/99(H1N1)-like virus A/Moscow/10/99(H3N2)-like virus B/Hong Kong/330/2001-like virus
2004	A/New Caledonia/20/99(H1N1) -like virus A/Fujian/411/2002(H3N2) - like virus B/Hong Kong/330/2001-like virus
2005	A/New Caledonia/20/99(H1N1)-like virus A/Wellington/1/2004(H3N2)-like virus B/Shanghai/361/2002-like virus
2006	A/New Caledonia/20/99(H1N1)-like virus A/California/7/2004(H3N2)-like viru B/Malaysia/2506/2004-like virus
2007	A/New Caledonia/20/99(H1N1)-like virus A/Wisconsin/67/2005(H3N2)-like virus

	B/Malaysia/2506/2004-like virus
2008	A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1)-like virus A/Brisbane/10/2007 (H3N2)-like virus B/Florida/4/2006-like virus
2009	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)-like virus A/Brisbane/10/2007 (H3N2)-like virus B/Florida/4/2006-like virus
2010	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09-like virus A/Perth/16/2009 (H3N2)-like virus B/Brisbane/60/2008-like virus
2011	A/California/7/2009 (H1N1)-like virus A/Perth/16/2009 (H3N2)-like virus B/Brisbane/60/2008-like virus
2012	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09-like virus A/Perth/16/2009 (H3N2)-like virus B/Brisbane/60/2008-like virus
2013	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09-like virus A/Victoria/361/2011 (H3N2)-like virus B/Wisconsin/1/2010-like virus
2014	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09-like virus A/Texas/50/2012 (H3N2)-like virus B/Massachusetts/2/2012-like virus
2015	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09-like virus A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2)-like virus B/Phuket/3073/2013-like virus
2016	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09-like virus A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-like virus B/Brisbane/60/2008-like virus
2017	A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09-like virus A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-like virus B/Brisbane/60/2008-like virus
2018	A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09-like virus A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2)-like virus B/Phuket/3073/2013-like virus
2019	A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09-like virus A/Switzerland/8060/2017 (H3N2)-like virus B/Colorado/06/2017-like virus (B/Victoria/2/87 lineage)
2020	A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09-like virus A/South Australia/34/2019 (H3N2)-like virus B/Washington/02/2019-like (B/Victoria lineage) virus
2021	A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09-like virus A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2)-like virus B/Washington/02/2019 (B/Victoria lineage)-like virus
2022	A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09-like virus

A/Darwin/9/2021 (H3N2)-like virus

B/Austria/1359417/2021 (B/Victoria lineage)-like virus

FONTE: Elaborado pelo autor com dados do *Global Influenza Programme* da OMS (2022) [29]

Existem poucos estudos no LES com foco na avaliação do componente da vacina contra o vírus influenza A (H3N2) [30-32]. Os primeiros estudos avaliando o impacto, segurança e imunogenicidade da vacina contra influenza em pacientes com LES foram realizados em 1978 [33-34]. Loui *et al.* avaliaram a imunogenicidade e segurança da vacina bivalente contra influenza A/New Jersey/76 (H1N1) e A/Victoria/75 (H3N2) em 11 pacientes com LES e oito controles encontrando resultados similares em ambos os grupos [33].

Em 2004, Mercado *et al.* publicaram os resultados da avaliação da imunogenicidade, após 4 semanas de vacinação contra influenza, em pacientes com LES e grupo controle, ambos com 18 indivíduos, cujo resultado apresentou elevados os títulos de anticorpos em ambos os grupos, com títulos superiores no grupo controle [35].

Del Porto *et al.*, em 2004, avaliaram a imunogenicidade e segurança após 30 dias de vacinação com a vacina trivalente A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/Moscow/10/99 (H3N2) e B/Shangdong/7/97 em 24 pacientes com LES e 10 controles saudáveis, encontrando resultados satisfatórios de segurança e imunogenicidades em ambos os grupos estudados [36].

Também em 2004, avaliando a vacina trivalente com os mesmos componentes, estudo de Holvast *et al.* encontrou menor taxa de soroconversão (SC) para os componentes H1N1 e H3N2 comparado 56 pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e 17 controles [30]. Ainda neste estudo, os pesquisadores encontraram menor imunogenicidade para o componente H3N2 nos pacientes que faziam uso de azatioprina [30].

Em 2009, Wallin *et al.* avaliaram imunogenicidade e segurança após 6 semanas da vacinação contra influenza com a vacina trivalente contendo as cepas A/NewCaledonian/20/99 (H1N1), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) e B/Malaysia/ 2506/ 2004 em 47 pacientes e 27 controles [37]. Os resultados do estudo demonstraram um menor percentual de SC na avaliação do componente H3N2 comparado ao grupo controle [37].

Estudos na população geral sugerem uma preocupante redução da eficácia, em determinadas temporadas, do componente H3N2 da vacina contra influenza A [11,38–42]. Vários fatores foram implicados nesta redução da eficácia da vacina, particularmente diferenças antigênicas entre a vacina e os vírus circulantes devido a mudanças rápidas na composição genética das variantes circulantes [22,43] e declínio significativo da proteção imunológica derivada da vacina [22,44] em comparação com outras composições de vacinas.

No entanto, até onde se tem conhecimento, nenhum estudo prévio avaliou a resposta de anticorpos e a segurança do componente da vacina influenza A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2) – doravante denominado A/Singapore(H3N2) – na população com LES.

2 OBJETIVOS

- Avaliar a imunogenicidade, a curto prazo, do componente A/Singapore (H3N2) sem adjuvante da vacina contra influenza.
- Avaliar a segurança do uso do componente A/Singapore (H3N2) sem adjuvante da vacina contra influenza.
- Avaliar o impacto e relevância da vacinação prévia contra influenza na resposta imune vacinal do componente A/Singapore (H3N2) sem adjuvante da vacina contra influenza.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo, pacientes e controles e critérios de exclusão

Foram selecionados, em um estudo longitudinal prospectivo, 104 pacientes com LES com idade ≥ 18 anos, regularmente acompanhados na Divisão de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, Brasil, entre abril e maio de 2018.

Neste período, durante as consultas ambulatoriais de rotina, esses pacientes foram convidados consecutivamente a participar da Campanha de Saúde Pública de Vacinação contra Influenza em 2018 no centro de imunização do referido hospital. Todos os pacientes preencheram os critérios de classificação 2012 - *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC) para LES [45].

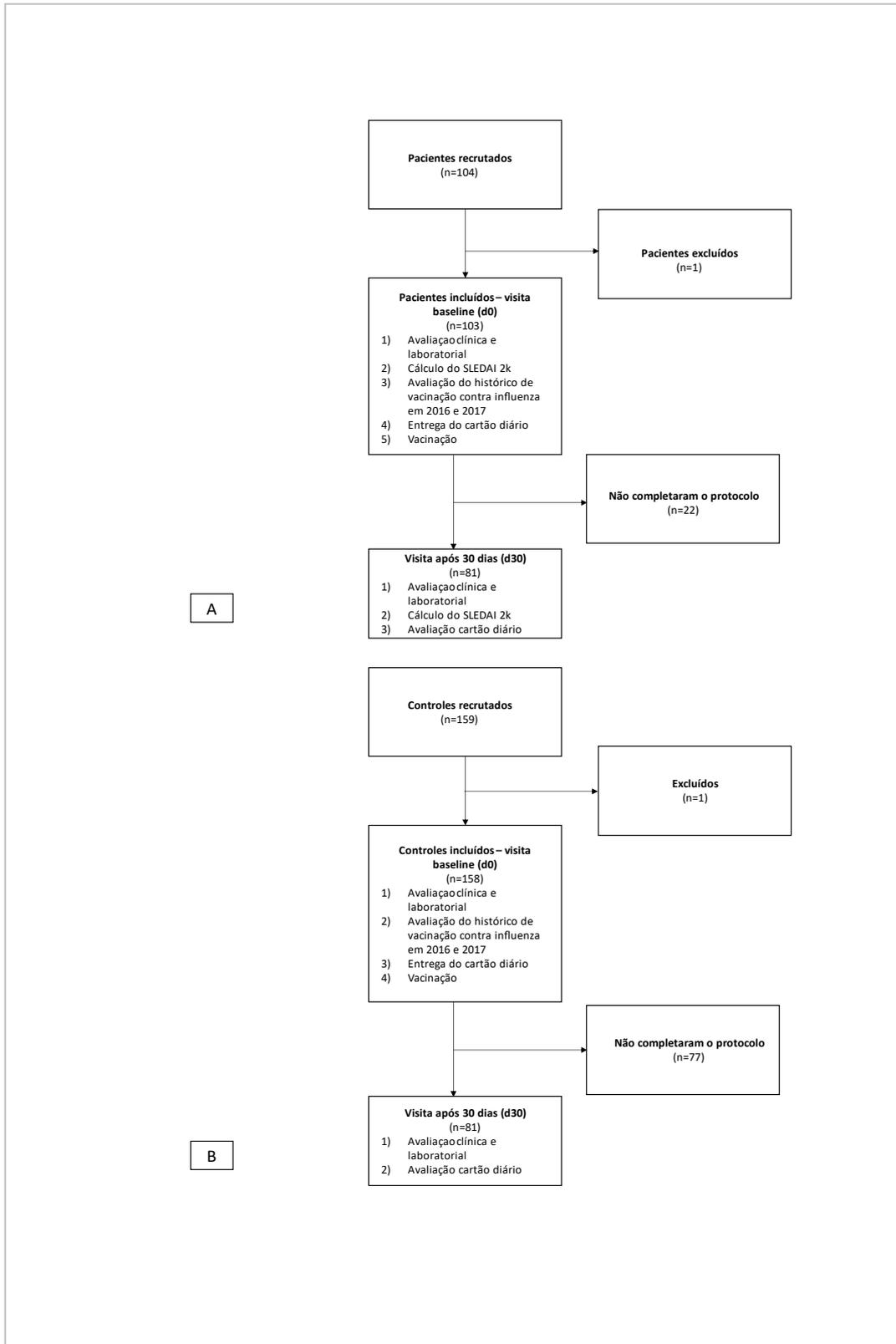
Para o Grupo Controle foram recrutados 159 colaboradores hospitalares saudáveis, com idade ≥ 18 anos e sem qualquer condição imunossupressora e reumática autoimune, que foram ao hospital em busca de vacinação na Campanha Saúde Pública de Vacinação contra Influenza foram convidados a participar como controles saudáveis (CS), pareados por idade e sexo com pacientes com LES.

Os critérios de exclusão para todos os participantes foram: infecção aguda ou febre (acima de 38°C) nos últimos três dias ou temperatura corporal $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$ no dia da vacinação; resposta anafilática prévia aos componentes da vacina ou ao ovo; história pregressa de síndrome de Guillain-Barré ou síndromes desmielinizantes; transfusão de sangue nos últimos três meses; vacinação anterior com qualquer vacina viva quatro semanas e/ou qualquer vacina inativada duas semanas antes de entrar no estudo.

Um paciente com LES foi excluído por vacinação prévia com vacina contra febre amarela 4 semanas antes e indivíduo do grupo controle por doença reumática autoimune, assim como 22 paciente com LES e 77 controles não completaram o protocolo de estudo (Figura 1).

Portanto, um total de 81 pacientes com LES (Figura 1) e 81 CS avaliados sistematicamente no D0 e D30. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética

Local do Hospital Universitário (número 2.593.404) e registrado em clinicaltrials.gov sob o número NCT03540823. Todos os participantes assinaram o consentimento informado.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

Figura 1 - Fluxo de pacientes com LES (A) e indivíduos controle (B).

- LES = lúpus eritematoso sistêmico
- Vinte e três pacientes foram excluídos por não completarem o estudo (22) e receber vacina contra vírus vivo recentemente (1).
- Setenta e oito indivíduos controle descontinuaram o estudo devido à impossibilidade de comparecer na visita após 30 dias (d30).

3.2 Protocolo de estudo

Todos os indivíduos incluídos (pacientes com LES e CS) foram avaliados na entrada (d0) e após 30 dias (d30) da vacinação contra influenza. As avaliações clínicas e laboratoriais foram realizadas e registradas para cada participante imediatamente antes (d0) e trinta dias após a vacinação (d30). Os pacientes com LES também foram avaliados quanto à atividade atual da doença, de acordo com a pontuação *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000* (SLEDAI-2K) [46], em ambas as visitas. Dados prévios de vacinação contra influenza nos anos de 2016 e 2017 também foram documentados de acordo com os registros de vacinação do hospital e cartões de vacinação de pacientes e controles.

3.2 Vacina

Foi utilizada no estudo a vacina trivalente inativada, sem adjuvante, conforme a OMS definiu para utilização no Hemisfério Sul em 2018 [47] e confirmado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 09 de outubro de 2017, para Campanha de Saúde Pública contra Influenza em 2018 no Brasil [48]. A composição da vacina utilizou as cepas [A/Michigan/45/2015 (H1N1) pdm09, A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) e B/Phuket/3073/2013-like vírus].

De acordo com esta Campanha Nacional de Saúde Pública todos os participantes receberam na entrada a vacina contra influenza produzida pelo Instituto Butantan (Brasil), lote número 180069. Uma dose única intramuscular (0,5 mL) foi administrada em todos os participantes no centro de imunização do HCFMUSP.

3.3 Ensaio de Imunogenicidade Vacinal

Amostras de sangue foram coletadas antes (d0) e após a imunização (d30) e armazenadas a -70°C para análise posterior. Duas amostras de cada indivíduo, de ambos os grupos, foram testadas em paralelo na mesma placa para todas as determinações laboratoriais. Na testagem avaliações duplas foram revisadas em caso de discordância entre os resultados de cada amostra.

A imunogenicidade do componente A/Singapore (H3N2) da vacina contra influenza foi avaliada pela determinação dos níveis de anticorpos específicos usando o *hemagglutination inhibition assay* (HIA) [49], no Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro-RJ, de acordo com uma técnica padronizada.

Seguindo a padronização da técnica, resumidamente, cada soro foi tratado com *Receptor Destroying Enzyme* (RDE) para remover a hemaglutinação inespecífica a uma diluição de 1:10, posteriormente à base 2 em série diluída a 1:1280 em uma placa de micropoços de fundo em forma de U, e, por fim, incubada com o A/Singapore (H3N2) vírus (gentilmente fornecido pelo *The Francis Crick Institute*) em 4 unidades de hemaglutinação por concentração de 25 μl . Após uma segunda incubação com 0,75% de glóbulos vermelhos de cobaia, a hemaglutinação foi registrada. Um controle negativo (sem vírus) e um controle positivo (com anti-soros padrão), bem como uma titulação reversa do vírus foram usados para cada rodada de ensaio. As porcentagens de soroproteção (SP) (definida como titulação $\geq 1:40$) e soroconversão (SC) (definida como um título pré-vacinação $< 1:10$ e um título HIA pós-vacinação $\geq 1:40$ ou títulos pré-vacinação $\geq 1:10$ e um aumento ≥ 4 vezes após a vacinação), títulos médios geométricos (GMTs) e aumentos de fator FI em GMTs (FI GMT): a razão dos títulos após a vacinação para os títulos antes da vacinação foram calculados. Os títulos de GMT foram divididos em baixos (< 40), médios (≥ 40 e < 160) e altos: (≥ 160) [50].

3.4 Avaliação de segurança vacinal

Na primeira visita um cartão diário padronizado foi entregue a todos os participantes para registrar os eventos adversos após a vacinação. Este cartão incluía reações locais (dor, vermelhidão, inchaço e coceira) e eventos adversos sistêmicos (artralgia, febre, dor de cabeça, mialgia, dor de garganta, tosse, diarreia, rinorreia e congestão nasal).

Foi solicitada a devolução do cartão de todos os indivíduos no final do período do estudo. Todas as reações locais foram consideradas relacionadas à vacina contra influenza. Os sintomas registrados foram verificados pelos investigadores para determinar a causalidade dos eventos adversos sistêmicos apresentados. Nesta pesquisa considerou-se "evento adverso grave" como aquele que requer hospitalização imediata ou que levou à morte.

3.5 Avaliação de dados demográficos, clínicos, laboratoriais, atividade de doença e terapia farmacológica

Os dados demográficos incluíram idade atual, duração da doença e sexo. As características clínicas e laboratoriais cumulativas foram definidas de acordo com as variáveis dos critérios de classificação 2012-SLICC para LES [45]. Os parâmetros de atividade da doença (SLEDAI-2K) [46] calculados em d0 e d30 incluíram níveis de complemento medidos por imunodifusão radial (*SIEMENS Health Care*, Marburg, Alemanha) e os anticorpos anti-DNA dupla hélice foram detectados por ensaio imunoenzimático (ELISA) (INOVA Diagnostics Inc., San Diego, CA) e confirmado por imunofluorescência indireta em *Crithidia luciliae*.

Para avaliação de remissão/baixa atividade de doença, utilizamos o parâmetro do LLDAS: SLEDAI-2K ≤ 4 ; sem atividade nos principais sistemas orgânicos (renal, sistema nervoso central, cardiopulmonar, vasculite, febre) e sem anemia hemolítica ou atividade gastrointestinal [51]. O uso atual e a dose de hidroxiquina, bem como de outros medicamentos imunossupressores (glicocorticoides, azatioprina, ciclofosfamida, metotrexato, micofenolato mofetil e leflunomida) também foram avaliados.

3.6 Análise estatística

A avaliação do tamanho amostral, com a amostra de 81 pacientes, forneceu um poder de 87,7% para atingir uma margem de não inferioridade de até 10% nas taxas de SC entre pacientes com LES e CS, em um nível alfa de 0,05 [30].

As análises foram descritivas, com cálculo de intervalos de confiança (IC) bilaterais de 95%, assumindo distribuições binomiais para variáveis dicotômicas e distribuição log-normal para títulos de inibição da hemaglutinação. Para as variáveis categóricas, os resumos estatísticos incluíram taxas de SC e SP; essas taxas foram comparadas pelo teste exato de Fisher. O FI transformado em log foi comparado entre subgrupos de pacientes com LES usando um teste t de *Student* bilateral com nível α de 0,05. Os níveis de significância adotados em todas as análises foram fixados em 5%.

4 RESULTADOS

4.2 Avaliação demográfica, características clínicas, laboratoriais, atividade de doença e terapia farmacológica

A média de idade ($40,4 \pm 11,6$ vs. $40,1 \pm 10,9$ anos, $p=0,851$), frequências do sexo feminino (86% vs. 86%, $p=1.000$) e tabagismo atual (4% vs. 4%, $p=1.000$) foram semelhantes em pacientes com LES e CS. Os pacientes com LES apresentaram frequências mais altas de raça não caucasiana [56 (69) vs. 31 (38), $p=0,0001$] e índice de massa corporal elevado do que CS [27,7 (16,2-42,3) vs. 25,0 (18,4-47,3), $p=0,004$]. A duração média da doença para pacientes com LES foi de $12,2 \pm 7,4$ anos.

As características clínicas e laboratoriais cumulativas de acordo com as definições dos critérios 2012-SLICC no d0 foram: 100% ($n=81$) dos pacientes com critérios imunológicos, 88% ($n=62$) com artrite, 73% ($n=59$) com lúpus cutâneo agudo, 59% ($n=48$) com manifestação renal, 38% ($n=31$) com leucopenia, 36% ($n=29$) com serosite, 25% ($n=20$) com alopecia não cicatricial, 20% ($n=16$) com úlceras orais ou nasais, 17% ($n=14$) com trombocitopenia, 15% ($n=12$) anemia hemolítica, 14% ($n=11$) com manifestação neurológica e 7% ($n=6$) com lúpus cutâneo crônico.

A **Tabela II** mostra o escore de atividade da doença e a terapia medicamentosa em pacientes com LES no início (d0) e no final do estudo (d30). O parâmetro de atividade da doença permaneceu estável, uma vez que não foram observadas alterações significativas nos escores do SLEDAI-2K em d0 e d30 [2 (0-16) vs. 2 (0-14), $p=0,665$]. Não foram identificadas diferenças de uso atual e dose de hidroxicloroquina, glicocorticoides, azatioprina, ciclofosfamida, metotrexato, micofenolato mofetil e leflunomida entre d0 e d30 ($p>0,05$).

Tabela II - Escore de atividade de doença (SLEDAI-2K) e medicações em uso nos pacientes com LES na avaliação inicial (d0) e no fim do estudo (d30)

	d0 (n=81)	d30 (n=81)	P
Escore SLEDAI-2K	2 (0-16)	2 (0-14)	0,665
Terapia atual			
Sem medicação	8 (10)	7 (9)	0,786
Hidroxicloroquina	51 (63)	51 (63)	1,000
mg/kg/dia	4,4 ± 1,1	4,4 ± 1,1	0,871
Prednisona	41 (51)	41 (51)	1,000
mg/dia	7,5 (2,5-30)	7,5 (0-60)	0,996
Imunossupressores	50 (62)	46 (57)	0,631
Micofenolato de mofetil	23 (28)	22 (27)	0,868
g/dia	2 (0,5-3,5)	2 (1,0-3,5)	1,000
Azatioprina	13 (16)	13 (16)	1,000
mg/dia	150 (100-250)	150 (100-250)	1,000
Ciclofosfamida IV	6 (7)	4 (5)	0,746
Metilprednisolona IV	1 (1)	1 (1)	1,000
Metotrexato	5 (6)	5 (6)	1,000
Mg/semana	12,5 (10-20)	15 (10-20)	1,000
Leflunomida	5 (6)	4 (5)	1,000
mg/dia	20 (20-20)	20 (20-20)	1,000

FONTE: Elaborado pelo autor com os dados da pesquisa (2021)

Dados apresentados em mediana (mínimo-máximo) ou n (%).

SLEDAI-2K - SLE Disease Activity Index 2000.

IV – Intravenosa

4.3 Avaliação da imunogenicidade

Antes da imunização contra influenza, os grupos LES e CS tinham uma taxa de SP elevada e semelhante (89% vs. 77%, $p = 0,061$) e títulos elevados de GMT, com níveis mais altos no LES em comparação com CS [129,1 (104,1-154,1) vs. 54,8(45,0–64,6), $p < 0,001$] (**Tabela III**).

Quatro semanas após a vacinação, as taxas de SC no d30 foram baixas e semelhantes nos grupos LES e CS (16% vs. 11%, $p = 0,974$). As taxas de SP persistiram elevadas de d0 a d30 observadas para LES [72 (89%) vs. 77 (95%), $p = 0,246$] e para CS [67 (77%) vs. 74 (91%), $p = 0,160$] (**Tabela III**).

No d30, a mediana do GMT aumentou para ambos os grupos [SLE: 129,1 (104,1–154,1) vs. 239,9 (189,5-290,4), $p < 0,0001$ e CS: 54,8 (45,0-64,6) vs. 94,5

(72,6–116,4), $p < 0,0001$] e permaneceu maior no LES comparado ao CS [239,9 (189,5-290,4) vs. 94,5 (72,6-116,4), $p < 0,0001$] com um FI-GMT semelhante no LES e CS [2,3 (1,8-2,9) vs. 1,9 (1,5-2,3), $p = 0,061$] (**Tabela III**).

Tabela III - Dados sorológicos de indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e controles saudáveis (CS) antes (d0) e após (d30) a vacinação contra influenza A(H3N2)/Singapore

	LES (n=81)	CS (n=81)	P
Antes da vacinação			
Soroproteção	72 (89)	62 (77)	0,061
GMT	129,1 (104,1–154,1)	54,8 (45,0–64,6)	<0,001
Após a vacinação			
Soroproteção	77 (95)	74 (91)	0,534
Soroconversão	13 (16)	9 (11)	0,974
GMT	239,9 (189,5–290,4)	94,5 (72,6–116,4)	<0,0001
FI GMT	2,3 (1,8-2,9)	1,9 (1,5-2,3)	0,061

FONTE: Elaborado pelo autor com os dados de imunogenicidade avaliados pela FIOCRUZ (2021)

Dados expressos em n (%) e mediana (intervalo de confiança de 95%) para GMT.

GMT: títulos médios geométricos.

FI GMT: fator de aumento nos títulos médios geométricos.

4.4 Impacto da terapia medicamentosa e atividade de doença

A investigação da possível influência dos medicamentos na SC revelou que os pacientes com LES, com e sem os seguintes medicamentos, apresentaram taxas de SC comparáveis: hidroxicloroquina [8/51 (16%) vs. 5/30 (17%), $p = 0,908$] glicocorticoide [8/41 (20%) vs. 5/40 (12%), $p = 0,390$] e uso de agentes imunossupressores [6/50 (12%) vs. 07/31 (23%), $p = 0,228$].

Da mesma forma, nenhuma diferença foi observada nas taxas de SC entre pacientes com LES com e sem terapia [12/73 (16%) vs. 1/8 (12%), $p = 1000$], com e sem doença ativa avaliada pelo critério de remissão LLDAS [51] como SLEDAI-2K < 4 vs. SLEDAI-2K ≥ 4 [7/57 (13%) vs. 6/24 (25%), $p = 0,154$].

4.5 Vacinação prévia contra influenza

No d0 realizou-se a verificação de vacinação contra influenza dos indivíduos durante dos anos de 2016 e 2017. Com levantamento foi possível obter o registro de dados vacinais de 53 dos 81 pacientes com LES. Os dados apontaram que, dentre os 53 indivíduos com registros vacinais detectados, 89% (n=47) foram vacinados em pelo menos um desses dois anos.

No grupo CS, o registro prévio de vacinação contra influenza foi obtido em 77 dos 81 indivíduos. Os dados apontaram que, dentre os 77 indivíduos com registros vacinais detectados, identificou-se que 90% (n=69) receberam a vacinação em pelo menos um dos dois anos. As frequências de vacinação prévia em dois anos contra influenza foram semelhantes nos pacientes com LES e no grupo CS (89% vs. 90%, p=1,000).

4.6 Segurança vacinal

Nenhum evento adverso grave foi identificado em pacientes com LES e CS durante as 4 semanas de seguimento da pesquisa. De todos os 162 participantes, 43% (n=70) permaneceram assintomáticos após a vacinação.

As frequências de reações locais (15% vs. 31%, p=0,024) e dor no local da injeção (14% vs. 28%, p=0,033) foram significativamente menores nos pacientes com LES do que no CS.

As reações sistêmicas foram igualmente observadas em ambos os grupos (52% vs. 37%, p=0,082). Pacientes com LES apresentaram frequências significativamente maiores de vertigem, cefaleia, artralgia e tosse em comparação com CS (p<0,05). A maioria desses sintomas foi leve e nenhum tratamento específico foi necessário para essas condições (**Tabela IV**).

Tabela IV - Eventos adversos após a vacinação contra influenza em indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e controles (CS)

	LES (n=81)	CS (n=81)	P
Assintomáticos	34 (42)	36 (44)	0,751
Reações locais	12 (15)	25 (31)	0,024
Dor no local de injeção	11 (14)	23 (28)	0,033
Eritema	2 (2)	2 (2)	1,000

Edema	3 (4)	4 (5)	1,000
Prurido	1 (1)	2 (2)	1,000
Endurecimento	2(2)	4 (5)	0,682
Reações sistêmicas	42 (52)	30 (37)	0,082
Febre	6 (7)	4 (5)	0,746
Mal-estar	9 (11)	6 (7)	0,589
Náusea	10 (12)	4 (5)	0,160
Vômito	1 (1)	2 (2)	1,000
Diarreia	3 (4)	5 (6)	0,720
Vertigem	10 (12)	2 (2)	0,034
Tremor	3 (4)	2 (2)	1,000
Cefaleia	24 (30)	10 (12)	0,011
Fadiga	10 (12)	9 (11)	1,000
Sudorese	6 (7)	2 (2)	0,277
Dor muscular	11 (14)	5 (6)	0,187
Artralgia	18 (22)	3 (4)	0,0007
Tosse	20 (25)	9 (11)	0,039
Coriza	20 (25)	20 (25)	1,000
Dor de garganta	9 (11)	3 (4)	0,131
Conjuntivite	2 (2)	0 (0)	0,497
Fraqueza	5 (6)	3 (4)	0,720
Eritema	2 (2)	1 (1)	1,000

FONTE: Elaborado pelo autor com base no cartão-diário para registro de sintomas pós-vacinais (2021)
Dados expressos em n (%)

5 DISCUSSÃO

Até onde se tem conhecimento, este é o primeiro estudo prospectivo a demonstrar um padrão peculiar de imunogenicidade do vírus influenza A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2)-like em pacientes com LES, caracterizado por inesperados títulos elevados de GMT e alta taxa de SP pré e pós-vacinação.

O presente trabalho teve algumas vantagens, notadamente o desenho prospectivo, permitindo a avaliação longitudinal da imunogenicidade da vacina influenza A/Singapore (H3N2); O uso da composição vacinal sem adjuvante, que exclui uma possível variável de confusão na avaliação da atividade da doença lúpica, uma vez que existem alguns dados intrigantes de autoimunidade induzida por adjuvante em modelos experimentais e humanos [50,52]; por fim, outra vantagem, deste trabalho, foi a correspondência de idade e sexo entre o grupo

de indivíduos com LES e os controles saudáveis, uma vez que esses dois parâmetros são conhecidos por afetar significativamente as respostas imunes da vacina [30,36].

Também avaliamos prospectivamente a segurança da vacina contra influenza A/Singapore (H3N2), avaliando o parâmetro validado de atividade do lúpus, bem como a influência da terapia imunossupressora, uma vez que esta pode influenciar a imunogenicidade vacinal [30,53]. Nesse sentido, estudo prévio do Grupo de Pesquisa em LES do HCFMUSP observou uma resposta reduzida à vacina contra influenza pandêmica A H1N1/2009 em pacientes com LES sob terapia imunossupressora [54].

No que concerne às limitações do presente estudo, destaca-se: 1) a falta de avaliações de longo prazo da resposta de anticorpos com dosagem seriada dos títulos de anticorpos e taxa de SP; e, 2) níveis basais de SP elevados encontrados em d0, uma vez que dificulta a melhor avaliação da SC.

Assim, acredita-se que o aumento observado na frequência de SP pré-vacinação e níveis elevados de GMT em pacientes com LES e CS podem estar associados à vacinação prévia contra influenza nos dois anos anteriores. Os resultados obtidos com a análise de imunogenicidade vacinal contrastam com a baixa frequência de SP descrita em estudos anteriores de pacientes com LES avaliando outros componentes da vacina contra o vírus influenza A (H3N2) [30-31,37,55].

Ressalta-se que a existência de estudos avaliando o impacto da vacinação prévia contra influenza na imunogenicidade da vacina em indivíduos com doença autoimune também são escassos. Podendo ser explicado pela recente recomendação da administração da vacina contra a influenza neste grupo de pacientes. Por este motivo, torna-se inviável a comparação com o estudo realizado neste mesmo serviço em 2009, que avaliou o componente H1N1 da vacina contra influenza. Já que os pacientes imunossuprimidos foram incluídos na campanha de vacinação contra influenza, no Brasil, apenas em 2014 [23, 54].

Durante as temporadas de 2016 e 2017, no Hemisfério Sul, a cepa A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-like vírus foi usada na composição da vacina contra influenza A [29]. Esta cepa pertence ao clado 3C.2A, mesmo grupo que a cepa A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2)-like vírus, e ambas possuem

similaridade genética [56]. O vírus tipo A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) apresenta apenas 3 diferenças nos aminoácidos em comparação com A/Hong Kong/7127/2014 no sítio antigênico (R142G - sítio A e N121K, N171K-sítio D) [56]. Um estudo de caracterização genética e antigênica em Yokohama durante as temporadas 2016/2017 e 2017/2018 produziu um mapa antigênico a partir dos dados do ensaio de neutralização de vírus *in vitro* demonstrando que ambas as cepas estão apenas uma unidade de distância antigênica entre elas [56].

Um estudo de modelo computacional foi utilizado para prever a eficácia vacinal em indivíduos que receberam vacinas diferentes. A interferência negativa foi maior quando a distância entre as cepas vacinais foi pequena [57]. Esse parece ser o caso de LES e CS vacinados com o componente da vacina influenza A/Singapore (H3N2), pois ambos os grupos apresentaram alta frequência de SP pré-vacinação e níveis elevados de GMT, apesar da administração repetida de cepas homólogas.

A alta taxa de SP pode ser responsável pela baixa taxa de SC observada no LES e CS, uma vez que a resposta imune existente pode dificultar um aumento adicional substancial na produção desse anticorpo específico. Em consonância com essa possibilidade, Nabeshima *et al.* (2007) [58] relataram que indivíduos com vacinação repetida apresentaram títulos de anticorpos pré-vacinação mais altos e um aumento menor nos títulos médios do ensaio inibição da hemaglutinação do que aqueles com uma única vacinação.

Assim, os pacientes com LES e CS avaliados no presente estudo apresentaram títulos elevados de GMT antes da vacinação e conseqüente baixa magnitude de aumento de FI GMT. Esse achado de taxas de SC muito baixas contrasta com os 53% de SC relatados por uma meta-análise com uma grande população de indivíduos com lúpus [32]. Especula-se que essa maior SC provavelmente esteja relacionada à baixa taxa de pré-vacinação observada nos indivíduos do estudo, uma vez que os dados sobre a vacinação prévia contra influenza são escassos na maioria dos estudos, a relevância deste fator não pode ser comprovada [32].

Vale ressaltar que drogas imunossupressoras e hidroxiquina não influenciaram SP e SC em pacientes com LES. Anteriormente, Abu Shakra *et al.*

(2002) [A/Sydney/05/97(H3N2)] mostraram reduzida imunogenicidade vacinal em dois grupos de pacientes com LES, um utilizando terapia com corticosteroides em dose maior que 10 mg/dia e outro em uso de azatioprina [53].

Já Holvast *et al.* (2006) avaliaram a segurança e imunogenicidade dos componentes vacinais A/Moscow/10/99-like (A/H3N2), A/New Caledonia/20/99-like (A/H1N1) e B/Hong Kong/330/2001-like (B/Shangdong/797) não encontrando diferenças na imunogenicidade vacinal comparando pacientes com LES sem terapia farmacológica, usando hidroxicloroquina (400mg/dia), prednisona (≥ 10 mg/dia), azatioprina (100mg/dia) na avaliação das cepas de influenza A H1N1 e influenza B. Contudo a avaliação da cepa vacinal de influenza A H3N2 demonstrou menor percentual de SC em um grupo de pacientes usando azatioprina [30].

Além disso, um estudo anterior Grupo de Pesquisa em LES do HCFMUSP, avaliando a imunogenicidade da vacina contra influenza pandêmica H1N1 de 2009, demonstrou maiores taxas de SP pré-vacinação em pacientes com LES em uso de difosfato de cloroquina (250 mg/dia) e menores taxas de SC naqueles em uso de azatioprina, metotrexato e micofenolato de mofetil [54]. Ainda nesse estudo, o grupo de indivíduos em uso de corticosteroides com dose média acima de 10mg/dia apresentou menores títulos de anticorpos e menor percentual de SC comparado ao grupo de indivíduos sem uso de corticoide [54]. É válido ressaltar que nesta pesquisa a dose média de corticoide nos pacientes com LES foi inferior a avaliada no estudo de Borba *et al.* (2009) [54].

É importante destacar que a vacina contra influenza foi bem tolerada sem eventos adversos graves, sem efeito prejudicial de curto prazo na atividade da doença ou a necessidade de aumentar a terapia imunossupressora durante o acompanhamento de indivíduos com LES [30,53], achados semelhantes aos obtidos em estudos prévios com a vacina contra influenza em pacientes com LES e com o estudo de Borba *et al.* (2009) serviço avaliando a componente H1N1 em 2009 [30,53,54]. Confirma-se e estende-se esta observação de segurança [30-31,37,59] para o componente influenza A/Singapore (H3N2) em pacientes com LES. De fato, nenhum deles desenvolveu efeitos adversos graves como síndrome de Guillain-Barré, convulsão, psicose ou síndrome cerebral

orgânica [60]. O fato das reações adversas locais apresentarem um frequência menor em indivíduos do grupo LES pode ser explicada pelo fato de parte desta população estar em uso de corticoide oral durante o período do estudo.

Destaca-se os altos níveis de SP detectados aqui, reforçando a importância da vacinação contra influenza A(H3N2) em pacientes com LES anualmente, uma vez que o componente H3N2, em virtude de sua plasticidade genética, tem uma conhecida evolução rápida e acúmulo de mutações em suas proteínas de superfície [61].

Deste modo, o vírus influenza A(H3N2) é um desafio para a seleção de cepas para composição vacinal, haja vista que de 2000 a 2018, no Hemisfério Sul, a recomendação da OMS para a composição da vacina H3N2 sofreu 13 modificações, em comparação com apenas 6 alterações, no mesmo período, para a composição da vacina H1N1 [29].

6 CONCLUSÃO

- Demonstramos que o padrão de imunogenicidade do componente vacinal A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) é distinto de outros componentes vacinais da influenza A de anos anteriores e caracterizado por uma taxa de SP pré e pós-vacinação notavelmente alta e altos níveis de GMT.
- Corroborando outros estudos que avaliaram distintas cepas de influenza, a vacina com a cepa A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) mostrou uma segurança adequada em pacientes com LES, sem efeito nocivo de curto prazo na atividade da doença.
- A vacinação prévia contra influenza A/H3N2 pode ser responsável pelo nível persistente de anticorpos. O impacto e a relevância da vacinação repetida anualmente precisa ser corroborado com novos estudos.

REFERÊNCIAS

- [1] Vemula SV, Zhao J, Liu J, Wang X, Biswas S, Hewlett I. Current approaches for diagnosis of influenza virus infections in humans. *Viruses*. 2016;8:96.
- [2] Pietrasik T. Influenza (Seasonal). World Heal Organ 2018. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (accessed March 28, 2021).
- [3] Palese P, Shaw ML. Orthomyxoviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields' Virology*. 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 1647-1690.
- [4] CDC. Types of Influenza Viruses. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm#:~:text=Clades%20and%20sub%2Dclades%20can,of%20their%20HA%20gene%20sequences>. Accessed May 1, 2023.
- [5] Wright PF; Webster RG. Orthomyxoviruses. In: Knipe D.M. et al. *Fields. Virology*. 5th. ed. CD-ROM. Lippincott Williams & Wilkins, Vol.II: 1693-1740, 2007
- [6] Bedford T, Suchard MA, Lemey P, Dudas G, Gregory V, Hay AJ, McCauley JW, Russell CA, Smith DJ, Rambaut A. Integrating influenza antigenic dynamics with molecular evolution. *eLife*. 2014;3:e01914.
- [7] Allen JD, Ross TM. H3N2 influenza viruses in humans: Viral mechanisms, evolution, and evaluation. *Hum Vaccin Immunother*. 2018;14(8):1840-1847. doi: 10.1080/21645515.2018.1462639. Epub 2018 May 14. PMID: 29641358; PMCID: PMC6149781.
- [8] Ghedin E, Sengamalay NA, Shumway M, Zaborsky J, Feldblyum T, Subbu V, Spiro DJ, Sitz J, Koo H, Bolotov P, Dernovoy D, Tatusova T, Bao Y, St George K, Taylor J, Lipman DJ, Fraser CM, Taubenberger JK, Salzberg SL. Largescale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature*. 2005 Oct 20;437(7062):1162-6. doi: 10.1038/nature04239. PMID: 16208318.
- [9] Lindstrom S, Garten R, Balish A, Shu B, Emery S, Berman L, Barnes N, Sleeman K, Gubareva L, Villanueva J, Klimov A. Human infections

with novel reassortant influenza A(H3N2)v viruses, United States, 2011. *Emerg Infect Dis.* 2012 May;18(5):834-7. doi: 10.3201/eid1805.111905. PMID: 22516100; PMCID: PMC3358127.

[10] Budd AP, Wentworth DE, Blanton L, Abd Elal AI, Alabi N, Barnes J, et al. Update: influenza activity—United States, October 1, 2017–February 3, 2018. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2018 Feb 16;67(6):169. PMID: 29447149.

[11] Korsun N, Angelova S, Trifonova I, Tzotcheva I, Mileva S, Voleva S, et al. Predominance of influenza A (H3N2) viruses during the 2016/2017 season in Bulgaria. *J Med Microbiol.* 2018 Feb;67(2):228-239. doi: 10.1099/jmm.0.000686. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29381420.

[12] Freitas ARR, Donalisio MR. Excess of mortality in adults and elderly and circulation of subtypes of influenza virus in Southern Brazil. *Front Immunol.* 2018 Dec 18;9:2905. doi: 10.3389/fimmu.2018.02905. PMID: 30619317; PMCID: PMC6300457.

[13] Brasil. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Informe técnico: Campanha Nacional de Vacinação Contra a Influenza 2014.

[14] Koutsakos M, Wheatley AK, Laurie K, Kent SJ, Rockman S. Influenza lineage extinction during the COVID-19 pandemic? *Nat Rev Microbiol.* 2021 Dec;19(12):741-742. doi: 10.1038/s41579-021-00642-4. Epub 2021 Oct 1. PMID: 34584246; PMCID: PMC8477979.

[15] Akhtar Z, Chowdhury F, Rahman M, Ghosh PK, Ahmmed MK, Islam MA, Mott JA, Davis W. Seasonal influenza during the COVID-19 pandemic in Bangladesh. *PLoS One.* 2021 Aug 3;16(8):e0255646. doi: 10.1371/journal.pone.0255646. PMID: 34343203; PMCID: PMC8330950.

[16] SIVEP—Influenza-Notifications of Severe Acute Respiratory Syndromes (SRAG) - Rio de Janeiro. Available online:http://sistemas.saude.rj.gov.br/tabnetbd/dhx.exe?sivep_gripe/sivep_gripe.def (accessed on 14 March 2022).

[17] Fujita DM, Dos Santos Soares G, Sartori GP, Henrique da Silva Nali L. COVID-19 and Influenza coinfection: The rise of Ômicron and H3N2 in Brazil - 2022. *Travel Med Infect Dis.* 2022 Mar-Apr;46:102262. doi:

10.1016/j.tmaid.2022.102262. Epub 2022 Jan 14. PMID: 35038569; PMCID: PMC8759102.

[18] Alosaimi B, Naeem A, Hamed ME, Alkadi HS, Alanazi T, Rehily SSA, et al. Influenza co-infection associated with severity and mortality in COVID-19 patients. *Virology*. 2021;18(1):127. doi: 10.1186/s12985-021-01594-0. PMID: 34127015; PMCID: PMC8192766.

[19] Guan Z, Chen C, Li Y, Yan D, Zhang X, Jiang D, et al. Impact of Coinfection With SARS-CoV-2 and Influenza on Disease Severity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Public Health*. 2021;9:773130. doi: 10.3389/fpubh.2021.773130. PMID: 34844932; PMCID: PMC8621267.

[20] Dadashi M, Khaleghnejad S, Abedi Elkhichi P, Goudarzi M, Goudarzi H, Taghavi A, et al. COVID-19 and Influenza Co-infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med*. 2021;8:681469. doi: 10.3389/fmed.2021.681469. PMID: 34123884; PMCID: PMC8172332.

[21] Santos CAD, Bezerra GVB, Marinho ARRAA, Sena LOC, Menezes VJ, Teixeira DCP, Souza MF, Góes MAO, Martins-Filho PR. SARS-CoV-2/influenza A (H3N2) virus coinfection: epidemiological surveillance in Northeast Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2022 Aug 5;55:e0132. doi: 10.1590/0037-8682-0132-2022. PMID: 35946626; PMCID: PMC9344941.

[22] Jester BJ, Uyeki TM, Jernigan DB. Fifty years of influenza A (H3N2) following the pandemic of 1968. *Am J Public Health*. 2020 Jun;110(6):669-676. doi: 10.2105/AJPH.2020.305684. Epub 2020 Apr 16. PMID: 32298131; PMCID: PMC7195653.

[23] 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 Jan;79(1):39-52. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215882. Epub 2019 Nov 5. PMID: 31690745.

[24] Fessler BJ. Infectious diseases in systemic lupus erythematosus: risk factors, management and prophylaxis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2002 Apr;16(2):281-291. doi: 10.1053/berh.2001.0193. PMID: 12067146.

- [25] Bernatsky S, Boivin J, Joseph L, Manzi S, Ginzler E, Gladman DD, et al. Mortality in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006 Aug;54(8):2550-2557. doi: 10.1002/art.21955. PMID: 16868972.
- [26] Ward MM, Pyun E, Studenski S. Causes of death in systemic lupus erythematosus, long-term followup of an inception cohort. *Arthritis Rheum.* 1995 Oct;38(10):1492-9. doi: 10.1002/art.1780381017. PMID: 7575700.
- [27] Domingues CMAS, Oliveira WK. Uptake of pandemic influenza (H1N1)-2009 vaccines in Brazil 2010. *Vaccine.* 2012 Jul 6;30(32):4744-51. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.05.005. Epub 2012 May 16. PMID: 22609130.
- [28] Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 46/2013, que trata sobre as determinações que deverão ser adotadas para as vacinas da gripe que serão utilizadas no Brasil em 2014.
- [29] World Health Organization. Global Influenza Programme (Internet). Geneva, Switzerland; 2022. [cited 2023 May 1]. Available from: <https://www.who.int/teams/global-influenza-programme/vaccines/who-recommendations.publico/Tesecompleta.pdf>.
- [30] Holvast A, Huckriede A, Wilschut J, Horst G, De Vries JJ, Benne CA, et al. Safety and efficacy of influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients with quiescent disease. *Ann Rheum Dis.* 2006 Jun;65(7):913-8. doi: 10.1136/ard.2005.044743. Epub 2006 Jan 23. PMID: 16431986.
- [31] Więsik-Szewczyk E, Romanowska M, Mielnik P, Chwalińska-Sadowska H, Brydak LB, Olesińska M, et al. Anti-influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients: an analysis of specific humoral response and vaccination safety. *Clin Rheumatol.* 2010 May;29(5):605-13. doi: 10.1007/s10067-010-1391-1. PMID: 20191311.
- [32] Liao Z, Tang H, Xu X, Liang Y, Xiong Y, Ni J. Immunogenicity and safety of influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients compared with healthy controls: a meta-analysis. *PLoS One.* 2016 Feb 16;11(2):e0147856. doi: 10.1371/journal.pone.0147856. PMID: 26882368; PMCID: PMC4752409.

- [33] Louie JS, Nies KM, Shoji KT, Fraback RC, Abrass C, Border W, Cherry JD, Imagawa D. Clinical and antibody responses after influenza immunization in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med.* 1978 Jun;88(6):790-2. doi: 10.7326/0003-4819-88-6-790. PMID: 307356.
- [34] Brodman R, Gilfillan R, Glass D, Schur PH. Influenzal vaccine response in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med.* 1978 Jun;88(6):735-40. doi: 10.7326/0003-4819-88-6-735. PMID: 307353.
- [35] Mercado U, Acosta H, Avendaño L. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Invest Clin.* 2004 Jan-Feb;56(1):16-20. PMID: 15144037.
- [36] Del Porto F, Lagana B, Biselli R, Donatelli I, Campitelli L, Nisini R, et al. Influenza vaccine administration in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: safety and immunogenicity. *Vaccine* 2006;24:3217–23.
- [37] Wallin L, Quintilio W, Locatelli F, Cassel A, Silva MB, Skare TL. Safety and efficiency of influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients. *Acta Reumatol Port* 2009;34.
- [38] Belongia EA, Simpson MD, King JP, Sundaram ME, Kelley NS, Osterholm MT, et al. Variable influenza vaccine effectiveness by subtype: a systematic review and meta-analysis of test-negative design studies. *Lancet Infect Dis* 2016;16:942–51.
- [39] Belongia EA, McLean HQ. Influenza vaccine effectiveness: defining the H3N2 problem. *Clin Infect Dis* 2019;69:1817–23.
- [40] Chiu SS, Kwan MYW, Feng S, Wong JSC, Leung C-W, Chan ELY, et al. Influenza vaccine effectiveness against influenza A (H3N2) hospitalizations in children in Hong Kong in a prolonged season, 2016/2017. *J Infect Dis* 2018;217:1365–71.
- [41] Mostafa A, Pleschka S. Influenza H3N2 Vaccines: recent challenges. *Trends Microbiol.* 2018;26:87–9.
- [42] Yang J-R, Hsu S-Z, Kuo C-Y, Huang H-Y, Huang T-Y, Wang H-C, et al. An epidemic surge of influenza A (H3N2) virus at the end of the 2016–2017 season in Taiwan with an increased viral genetic heterogeneity. *J Clin Virol.* 2018;99:15–21.

- [43] Yang H, Carney PJ, Chang JC, Guo Z, Villanueva JM, Stevens J. Structure and receptor binding preferences of recombinant human A (H3N2) virus hemagglutinins. *Virology*. 2015;477:18–31.
- [44] Henry C, Zheng N-Y, Huang M, Cabanov A, Rojas KT, Kaur K, et al. Influenza virus vaccination elicits poorly adapted B cell responses in elderly individuals. *Cell Host Microbe*. 2019;25:357–66.
- [45] Petri M, Orbai A, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2012;64:2677–86. <https://doi.org/10.1002/art.34473>.
- [46] Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002 Feb;29(2):288-91. PMID: 11838846.
- [47] Pietrasik T. Influenza (Seasonal). World Health Organization. 2018. Available from: [https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/influenza-(seasonal))
- [48] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Informe técnico: Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza. 2016. Available from: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2016/marco/15/informe-tecnico-campanha-nacional-vacinacao-influenza-2016.pdf>
- [49] Kaufmann L, Syedbasha M, Vogt D, Hollenstein Y, Hartmann J, Linnik JE, et al. An optimized hemagglutination inhibition (HI) assay to quantify influenza-specific antibody titers. *J Vis Exp*. 2017 Nov 27;(129). doi: 10.3791/56473. PMID: 29286472.
- [50] Beigel JH, Voell J, Huang CY, Burbelo PD, Clifford Lane H. Safety and immunogenicity of multiple and higher doses of an inactivated influenza A/H5N1 vaccine. *J Infect Dis*. 2009 Sep 1;200(5):501-9. doi: 10.1086/599992. PMID: 19656061.
- [51] Franklyn K, Lau CS, Navarra SV for the Asia-Pacific Lupus Collaboration, et al. Definition and initial validation of a Lupus Low Disease Activity State (LLDAS). *Ann Rheum Dis*. 2016 Sep;75(9):1615-1621. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-207726. PMID: 26873917.

[52] Guimaraes LE, Baker B, Perricone C, Shoenfeld Y. Vaccines, adjuvants and autoimmunity. *Pharmacol Res.* 2015 Dec;100:190-209. doi: 10.1016/j.phrs.2015.08.003. PMID: 26275758.

[53] Abu-Shakra M, Press J, Varsano N, Levy V, Mendelson E, Sukenik S, et al. Specific antibody response after influenza immunization in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2002;29(12):2555–7.

[54] Borba EF, Saad CGS, Pasoto SG, Calich ALG, Aikawa NE, Ribeiro ACM, et al. Influenza A/H1N1 vaccination of patients with SLE: can antimalarial drugs restore diminished response under immunosuppressive therapy? *Rheumatology.* 2012;51(2):1061–9.

[55] 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;70(3):414–22. doi: 10.1136/ard.2010.137216.

[56] Kawakami C, Yamayoshi S, Akimoto M, Nakamura K, Miura H, Fujisaki S, et al. Genetic and antigenic characterisation of influenza A (H3N2) viruses isolated in Yokohama during the 2016/17 and 2017/18 influenza seasons. *Eurosurveillance.* 2019;24(11):1800467. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.11.1800467.

[57] Smith DJ, Forrest S, Ackley DH, Perelson AS. Variable efficacy of repeated annual influenza vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(24):14001–6. doi: 10.1073/pnas.96.24.14001.

[58] Nabeshima S, Kashiwagi K, Murata M, Kanamoto Y, Furusyo N, Hayashi J. Antibody response to influenza vaccine in adults vaccinated with identical vaccine strains in consecutive years. *J Med Virol.* 2007 Feb;79(2):320-5. doi: 10.1002/jmv.20790. PMID: 17226709.

[59] Holvast B, Huckriede A, Kallenberg CGM, Bijl M. Influenza vaccination in systemic lupus erythematosus: safe and protective? *Autoimmun Rev.* 2007 Mar;6(3):300-5. doi: 10.1016/j.autrev.2006.11.008. PMID: 17306956.

[60] Agmon-Levin N, Kivity S, Shoenfeld Y. Influenza vaccine and autoimmunity. *Isr Med Assoc J.* 2009 Mar;11(3):183-5. PMID: 19432017.

[61] Flannery B, Kondor RJG, Chung JR, Gaglani M, Reis M, Zimmerman RK, et al. Spread of antigenically drifted influenza A (H3N2) viruses

and vaccine effectiveness in the United States during the 2018–2019 season. *J Infect Dis.* 2020 Jan 1;221(1):8-15. doi: 10.1093/infdis/jiz454. PMID: 31504811.

ANEXOS

ANEXO A - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA

Clínica Médica

USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO COMPONENTE H3N2 DA VACINA DA INFLUENZA TRIVALENTE EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS

Pesquisador: EDUARDO FERREIRA BORBA NETO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 86691118.1.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.593.404

Apresentação do Projeto:

Estudo prospectivo controlado. Serão avaliados prospectivamente pacientes e indivíduos com idade 18 anos com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico (LES) e síndrome de Sjögren primária (SSp), conforme os critérios de classificação estabelecidos para essas doenças^{30,31} seguidos regularmente na Divisão de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCFMUSP).

Serão avaliados prospectivamente pacientes com idade 9 anos e < 18 anos com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ), conforme os critérios de classificação estabelecidos para essas doenças³⁰ seguidos regularmente no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). O grupo controle será composto de 180 indivíduos saudáveis que serão recrutados na campanha de vacinação pareados para idade e sexo. O grupo controle juvenil será composto de 50 crianças saudáveis que serão recrutados na campanha de vacinação pareados para idade e sexo.

Crítérios de inclusão:

- Pacientes com LES e LESJ segundo os critérios de classificação do ACR30 com idade 18 anos para adultos e com idade 9 e < 18 anos para o grupo juvenil
- Pacientes com SSp (critérios de classificação do European Study Group on Diagnostic Criteria for Sjögren's Syndrome) ³¹ com idade 18 anos

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.593.404

Critérios de exclusão:

1. História de resposta anafilática aos componentes vacinais ou alergia a ovo
2. Doença aguda febril moderada ou grave
3. Síndrome de Guillain-Barré, insuficiência cardíaca descompensada (classe III ou IV), doença desmielinizante.
4. História de vacina de vírus vivo até 4 semanas antes, vacina de vírus inativado até 2 semanas antes, vacina anti-influenza até 6 meses antes do estudo.
5. História de ter recebido hemoderivados até 6 meses antes do estudo.
6. Indivíduos que não aceitarem participar do estudo e/ou cujos responsáveis não concordarem em participar do estudo.
7. Pacientes hospitalizados
8. Pacientes com quadros graves que necessitem internação.

Os pacientes e controles saudáveis serão vacinados pelo CRIE do HCFMUSP. A triagem dos pacientes para os critérios de exclusão e inclusão será feita no ambulatório de reumatologia após avaliação médica, no dia da consulta. Para os controles será feita a triagem de rotina do CRIE.

O protocolo de vacinação será de uma dose da vacina influenza dia D0 (entrada) para os pacientes (LES, LESj e SSp) e controles, além de coleta de amostra de sangue. No fim do estudo (entre D30-D45), pacientes (LES, LESj e SSp) e controles farão uma nova coleta de amostra de sangue.

Na entrada (D0) e fim do estudo (entre D30-D45), os pacientes serão avaliados para atividade de doença clínica e laboratorial através de índices de atividade inflamatória específicos para cada doença:

LES: SLEDAI (lab:hemograma, anti-dsDNA, complemento, urina I e relação prot/creat + 1 tubo seco para congelar) 32

SSp: EULAR Sjogren's syndrome disease activity index (lab:PCR, anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B + 1 tubo seco para congelar) 33

Os pacientes e controles saudáveis serão orientados quanto aos possíveis efeitos colaterais da vacina. Além disso, pacientes e controles serão orientados a anotar em diário padronizado as alterações que ocorrem no período, tais como: prurido, dor local, eritema, induração no local da vacina, febre, calafrios, cefaléia, mialgia, artralgia e diarreia. Serão também orientados a anotar durante o período de observação sinais de infecções de vias aéreas (tosse, expectoração, dor de garganta, dor ou secreção auricular, congestão ou expectoração nasal), febre (temperatura axilar > 37,8° C), necessidade de atendimento médico, internações, gravidade das infecções, dias de doença, absenteísmo no trabalho e tratamento recebido, relativo a infecções de vias áreas ou

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.593.404

febre.

Eventos adversos graves serão definidos como aqueles que resultarem em hospitalização ou óbito.

Será disponibilizado um telefone de contato para pacientes e controles para orientação sobre eventos adversos moderados a graves.

Serão incluídos 418 participantes, sendo 230 controles, 98 participantes com Lúpus e 90 com a síndrome de Sjogren.

ESTA É A RESPOSTA DOS PESQUISADORES AOS QUESTIONAMENTOS DA CAPPESQ.

Objetivo da Pesquisa:

Primário:

1. Avaliar a imunogenicidade à vacina da influenza A H3N2 em pacientes com duas doenças reumáticas autoimunes sistêmicas (Lúpus Eritematoso Sistêmico - Adulto e Juvenil, Síndrome de Sjögren primária).

Secundários:

2. Avaliar a segurança da imunização com influenza A H3N2 nestes pacientes com doenças reumáticas autoimunes sistêmicas.

3. Avaliar a possível associação entre imunogenicidade vacinal com: dados demográficos, atividade clínica e laboratorial da doença, e tratamento de pacientes com estas doenças reumáticas.

4. Avaliar a possível associação de alteração de interleucinas (TNF alfa, interferon gama e IL-10 com efeitos adversos e imunogenicidade).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O risco para os participantes é mínimo. O local de coleta de sangue pode ficar roxo ou dolorido.

Desmaio ou infecção no local da coleta pode ocorrer raramente. Pode haver um risco maior da vacina em participantes com doenças reumáticas. Benefícios: Os participantes podem ter o benefício direto da proteção para a influenza, se a vacina mostrar-se imunogênica e eficaz. O maior benefício resultante do estudo é a avaliação da imunogenicidade e segurança da vacina em participantes com as doenças reumáticas especificadas acima.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo desenhado para avaliar a imunogenicidade e segurança da vacina para a influenza em indivíduos com doenças reumáticas. É altamente justificável frente à morbidade e mortalidade da influenza em pessoas imunocomprometidas, em particular, aquelas com doenças crônicas e

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010

UF: SP Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.593.404

incuráveis. Os métodos estão corretos, há cálculo do número de participantes necessários para se atingir os objetivos. O risco para os participantes é mínimo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores apresentam: folha de rosto devidamente preenchida e assinada; orçamento e cronograma detalhados; questionário a ser aplicado aos participantes; TCLE e termo de assentimento.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Estudo desenhado para avaliar a imunogenicidade e segurança da vacina para a influenza em indivíduos com doenças reumáticas. É altamente justificável frente à morbidade e mortalidade da influenza em pessoas imunocomprometidas, em particular, aquelas com doenças crônicas e incuráveis. Os métodos estão corretos, há cálculo do número de participantes necessários para se atingir os objetivos. O risco para os participantes é mínimo. Entretanto, algumas adequações são necessárias para que o parecer possa ser finalizado:

1. Qual é a vacina que será utilizada? Se for a vacina produzida pelo Instituto Butantan é a vacina influenza trivalente inativada e fragmentada (- um vírus similar ao vírus influenza A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09; - um vírus similar ao vírus influenza A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2); e - um vírus similar ao vírus influenza B/Phuket/3073/2013), composição esta definida pela OMS para o Hemisfério Sul para o ano de 2018 e ratificada pela ANVISA em 09/10/2017.

Deste modo, o título do projeto deve ser modificado para "avaliação do componente H3N2 da vacina influenza trivalente em pacientes com doenças reumatológicas" e também todas as citações semelhantes no texto do projeto e na PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO;

RESPOSTA: A vacina influenza inativada e fragmentada [A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09-like vírus, A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2)-like vírus; B/Phuket/3073/2013-like vírus] que foi definida pela OMS para o Hemisfério Sul para o ano de 2018 e ratificada pela ANVISA em 09/10/2017 é a que será utilizada na campanha de vacinação deste ano e também no neste estudo. Neste sentido, o Título foi modificado conforme a sugestão para "AVALIAÇÃO DO COMPONENTE H3N2 DA VACINA DA INFLUENZA TRIVALENTE EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS" bem como em todos os outros locais no projeto original (estão marcadas para a identificação).

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.593.404

CONCLUSÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Na penúltima linha da introdução na PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO, há uma afirmação não correta sobre composição da vacina (não é necessariamente a mesma no hemisfério norte e sul);

RESPOSTA: A correção foi realizada.

CONCLUSÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3. O TCLE apresenta algumas informações que devem ser modificadas;

a. O investigador principal deve ser o mesmo no TCLE e termo de assentimento e na Plataforma Brasil;

b. O título do projeto deve ser o mesmo em todos os documentos;

c. O pico da gripe na Europa não é no verão (página 02 do TCLE), e sim no inverno (dezembro-fevereiro);

d. A composição da vacina é específica para o hemisfério sul;

e. A resolução CNS 466 de 2011, enfatiza que no TCLE deve constar que os participantes têm direito à indenização por danos decorrentes da pesquisa;

f. É necessário constar do TCLE que as despesas com transporte, por ocasião da segunda coleta de sangue serão ressarcidas (em particular para os controles que podem não comparecer regularmente ao hospital);

g. Pode ser confeccionado somente um TCLE para os participantes com doenças reumatológicas ou controles desde que isto esteja especificado nos critérios de inclusão, pois os procedimentos são iguais para os dois grupos;

h. O mesmo TCLE pode ser utilizado para os pais responsáveis pelos menores, se na primeira frase estiver especificado "você ou o menor por quem você é responsável estão sendo convidados"

RESPOSTA:

a) Corrigido o nome do pesquisador

b) O mesmo título foi colocado em todos os documentos

c) A frase foi excluída do projeto

d) Colocada que a vacina é específica e que será a utilizada no Brasil

e) A observação da indenização foi incluída conforme orientação e indicado no TCLE.

f) Os pacientes serão convidados a participar do estudo no dia da consulta e no seu retorno. Os controles serão funcionários do complexo HC.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.593.404

g) O TCLE de pacientes e controles foi unificado para os adultos (em anexo) e para crianças/adolescentes colocando a frase em relação aos responsáveis (em anexo).

h) O TCLE para os responsáveis das crianças/adolescentes com a doença (lúpus) e controles saudáveis foi unificado ao de adultos, colocando a frase em relação aos responsáveis (em anexo).

CONCLUSÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4. Além do TCLE para pais ou responsáveis, é necessário elaborar um termo de assentimento para as crianças e adolescentes, explicando em linguagem muito simples o que é o estudo e quais procedimentos serão submetidos (com seus riscos e desconfortos). Como o risco é mínimo, pode ser somente um termo de assentimento para todas as faixas etárias. Na dúvida, favor consultar o site do Hospital das Clínicas (Diretoria Clínica, comissões permanentes – CAPPesq).

RESPOSTA: O Termo de Assentimento para as crianças/adolescentes foi criado para melhor compreensão dos mesmos (em anexo).

CONCLUSÃO: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Desse modo, a pesquisa atende a normatização brasileira de ética em pesquisa e não há impedimentos éticos para a sua aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1100261.pdf	11/04/2018 08:55:57		Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoFinal11042018.pdf	11/04/2018 08:55:25	EDUARDO FERREIRA BORBA	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	RespostaSugestoeseticadaprimeiraversao06042018.docx	09/04/2018 12:11:18	EDUARDO FERREIRA BORBA	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.593.404

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Assentimento_juvenilUNIFICADO H3N206042018.docx	09/04/2018 12:09:29	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEadultoUNIFICADOH3N206042018.docx	09/04/2018 12:09:11	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito
Cronograma	CronogramaVacinaH3N2LES_06042018.docx	09/04/2018 12:08:56	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOVACINAH3N2FINAL06042018.docx	09/04/2018 12:08:18	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	CartaAprovacaoH3N2EduardoBorba.pdf	02/04/2018 12:13:59	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito
Brochura Pesquisa	FichaSintomasDiariosVacinaH3N226032018.docx	28/03/2018 10:49:27	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito
Brochura Pesquisa	EntrevistaChecagemH3N225032018.docx	28/03/2018 10:48:08	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 11 de Abril de 2018

Assinado por:

ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo B - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - ADULTO

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 DO COMPONENTE H3N2 DA VACINA DA INFLUENZA TRIVALENTE EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS

2. PESQUISADOR PRINCIPAL:

EDUARDO FERREIRA BORBA NETO
Cargo/ Função: Prof. Associado da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina do HC-FMUSP.
Inscrição no Conselho Regional Nº: 60238
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 ou o menor pelo qual você é responsável está sendo convidado a participar dessa pesquisa por ter uma doença reumatológica (lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren primária) ou ser uma pessoa saudável e estar em programação de receber a vacina Influenza Inativada e fragmentada [A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09-like virus, A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2)-like virus; B/Phuket/3073/2013-like virus. 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.

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Participante de Pesquisa

PROPÓSITO DO ESTUDO: A gripe é uma doença infecciosa que tem ocorrência anual. Durante as epidemias, 5 a 15% da população mundial ficará infectada, resultando em 3-5 milhões de casos de doença grave e entre 250.000-500.000 mortes por ano em todo o mundo. A gripe é uma infecção viral altamente contagiosa nos seres humanos causada por três tipos de vírus da Influenza A, B e C. Os dois primeiros tipos, em particular os vírus Influenza A (H1N1), A (H3N2) e Influenza B, causam epidemias de gripe sazonal, que estão associadas a alta morbidade e mortalidade significativa. Anualmente no Brasil, a campanha vacinal ocorre em abril e maio, e usará a vacina Influenza Inativada e fragmentada [A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09-like vírus, A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2)-like vírus; B/Phuket/3073/2013-like vírus. Sabe-se que estudo realizado no sudeste do Brasil, no período de 2002-2015, evidenciou que as maiores taxas de mortalidade ocorreram particularmente nos anos de circulação da gripe A H3N2. Diante desse quadro, esta vacinação está indicada para os pacientes com doenças reumatológicas pelo risco desta infecção, quer pela doença ou pelo uso de suas medicações. Por apresentar um risco aumentado de contrair infecções, estamos convidando você a participar deste estudo para avaliar a segurança da vacina e entender melhor como é a sua resposta ao componente H3N2 desta vacina de Influenza.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO: Poderão participar desse estudo pacientes com algumas doenças reumatológicas (**lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren primária**) com idade superior a 18 anos. Crianças com idade superior ou igual a 9 anos e menor que 18 anos que apresentem lúpus eritematoso sistêmico juvenil também poderão participar. Crianças saudáveis com idade superior ou igual a 9 anos e menor que 18 anos também poderão participar e serão controles dos pacientes. Adultos saudáveis com idade superior a 18 também poderão participar e serão controles dos pacientes. Todos os participantes receberão a vacina Influenza Inativada e fragmentada [A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09-like vírus, A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2)-like vírus; B/Phuket/3073/2013-like vírus. 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 aqueles 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, estejam com alguma infecção; 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 terá um acompanhamento de segurança que inclui ficha de manifestações que será preenchida por você e avaliada após 30-45 dias da vacina pela equipe médica. Caso necessário você passará por consulta com o médico de plantão da equipe do protocolo. A ficha contém orientações para contato em caso de manifestações graves. A sua participação no protocolo inclui a autorização de coleta de dados em seu prontuário, respeitados o anonimato e confidencialidade das suas informações. Serão ainda colhidos exames de sangue (20 mL – menos que uma xícara de café) em 2 momentos: antes de receber a vacina (entrada), e após 30-45 dias. O sangue será colhido somente para se estudar a resposta a essa vacina em pacientes com doenças reumatológicas (será avaliado se o seu organismo produz quantidade suficiente de anticorpo para garantir proteção, que são substâncias produzidas pelas células de defesa do corpo) e nos controles. Não há procedimentos, exames ou remédios experimentais. Lembre-se de que todos os exames que forem feitos neste estudo são para fins desta pesquisa. Pacientes e controles serão orientados a entrarem em contato com os pesquisadores caso apresentem quadro gripal até 6 meses após a vacinação para serem avaliados, de forma clínica e laboratorial, com possibilidade de coleta de swab nasal para avaliação de vírus respiratório.

RISCOS E DESCONFORTOS: Poderá ocorrer um pouco de dor ou inchaço no local da coleta de sangue. Riscos de reações de maior gravidade da vacina são raros mas a pessoa pode apresentar transitariamente sintomas de dor e/ou endurecimento no local, vermelhidão, coceira, febre, calafrios, dor de cabeça, dores no corpo e nas juntas e diarreia. 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. Os participantes tem direito a indenização por danos decorrentes da pesquisa. Se decidir não participar do estudo, ou sair dele, essa decisão não terá nenhuma influência sobre seus futuros cuidados médicos.

2

 Rubrica do Pesquisador

 Rubrica do Participante de Pesquisa

BENEFÍCIOS: O principal benefício é reduzir o risco de adquirir a gripe causada pelo vírus Influenza e também o acompanhamento médico para o diagnóstico e acompanhamento das complicações da vacina. O participante saberá ainda se a vacinação foi efetiva, isto é, se sua proteção foi suficiente e que estará protegido para a infecção. 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. A vacinação faz parte do calendário deste ano para toda a população, salvo contra-indicações formais. 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 a pesquisa ou quaisquer outras dúvidas ou sintomas, por favor, entre em contato com: Prof. Dr. Eduardo Borba, Profa. Dra. Eloisa Bontá, Dra. Sandra Pasoto, Prof. Dr. Clovis Silva, Dra. Nadia Emi Aikawa, Dra. Juliana Yamashiro e Dra. Adriana Coracini Tonacio de Proença, nos endereços e telefones abaixo:

- Endereço: Faculdade de Medicina da USP
Av. Dr. Arnaldo, N° 455 – 3º andar, sala 3190. 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)
- E-mail: 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 Ovidio Pires de Campos, 225 – 5º andar. Tel: (11) 2661-7585. E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Acredito ter sido suficientemente informado(a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "AVALIAÇÃO DO COMPONENTE H3N2 DA VACINA DA INFLUENZA TRIVALENTE EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS".

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Prof. Dr. Eduardo Borba, Profa. Dra. Eloisa Bontá, Dra. Nadia Emi Aikawa e Dra. Adriana Coracini Tonacio de Proença) ou pessoa(s) por ele delegada(s) 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 para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi- analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.				Data
(Somente para o responsável do projeto)				
		/	/	
Assinatura do responsável pelo estudo				Data

ANEXO C – CARTÃO-DIÁRIO PARA REGISTRO DE SINTOMAS PÓS-VACINAIS

Para o médico que for avaliar este paciente:

Se suspeita de reação vacinal grave ou com reação cutânea grave entrar em contato imediatamente com o Plantão Controlador do Hospital das Clínicas (HC) da FMUSP (Tel. 2661-6570)

PROTOCOLO VACINA INFLUENZA H3N2 2018

PACIENTES REUMATOLÓGICOS
HC da FMUSP



PACIENTE COM ENTRADA AUTORIZADA NO PERÍODO: 23/04/2018 A 30/11/2018 NA REUMATOLOGIA (PAMB 5^o. ANDAR-BLOCO 4A) DE 2^a. A 6^a. FEIRA DAS 7H ÀS 15H30.

QUEIXAS	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Inchaço no local de aplicação	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Hematoma /Manchas roxas	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Vermelhidão no local de aplicação	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Dor no local de aplicação	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Coeira no local da aplicação	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Endurecimento no local da aplicação	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Febre	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Mal-estar	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Náusea/Enjôo	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Vômito	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Diarréia	<input type="checkbox"/> Sim x dia <input type="checkbox"/> Não				
Tontura	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Tremor	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Dor de cabeça	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Cansaço	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Sudorese	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Dor nos músculos	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Dor nas juntas	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Tosse	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Coriza	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Fraqueza muscular	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				
Vermelhidão no corpo	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				

Quanto sua pior queixa prejudicou o seu dia a dia?	<input type="checkbox"/> Nada <input type="checkbox"/> Pouco <input type="checkbox"/> Muito <input type="checkbox"/> Incapacitou	<input type="checkbox"/> Nada <input type="checkbox"/> Pouco <input type="checkbox"/> Muito <input type="checkbox"/> Incapacitou	<input type="checkbox"/> Nada <input type="checkbox"/> Pouco <input type="checkbox"/> Muito <input type="checkbox"/> Incapacitou	<input type="checkbox"/> Nada <input type="checkbox"/> Pouco <input type="checkbox"/> Muito <input type="checkbox"/> Incapacitou	<input type="checkbox"/> Nada <input type="checkbox"/> Pouco <input type="checkbox"/> Muito <input type="checkbox"/> Incapacitou
--	---	---	---	---	---

OUTRAS QUEIXAS: _____

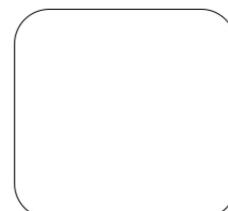
	Data	Procedimento	Comparecimento
Dia 0	/ /	Coleta + Vacina +Avaliação Clínica	
Dia 30-45	/ /	Coleta + Avaliação Clínica	

Orientações

1) Preencher os sintomas ao lado.

2) Caso apresente mal estar intenso, febre persistente e outros sintomas, procure o serviço de saúde mais próximo para orientação.

3) Se os sintomas forem leves, apenas utilizar dipirona conforme receita médica e relatar os sintomas ao lado.



ANEXO D - LINK PARA O ARTIGO PUBLICADO

Link para artigo publicado na revista LUPUS:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34459317/>

Claudino Formiga FF, Silva CA, Pedrosa TDN, Aikawa NE, Pasoto SG, Garcia CC, Capão ASV, Martins VAO, Proença ACT, Fuller R, Yuki EFN, Vendramini MBG, Rosário DCD, Brandão LMKR, Sartori AMC, Antonangelo L, Bonfá E, Borba EF. Influenza A/Singapore (H3N2) component vaccine in systemic lupus erythematosus: A distinct pattern of immunogenicity. *Lupus*. 2021 Oct;30(12):1915-1922. doi: 10.1177/09612033211040371. Epub 2021 Aug 28. PMID: 34459317.