

Carlo Scognamiglio Renner Araujo

Ensaio clínico randomizado de interrupção do metotrexato por 2 semanas após cada dose da vacina CoronaVac para SARS-CoV-2 em pacientes com artrite reumatoide

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

São Paulo
2024

Carlo Scognamiglio Renner Araujo

Ensaio clínico randomizado de interrupção do metotrexato por 2 semanas após cada dose da vacina CoronaVac para SARS-CoV-2 em pacientes com artrite reumatoide

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

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientadora: Dra. Ana Cristina de Medeiros Ribeiro

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

São Paulo
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Araujo, Carlo Scognamiglio Renner

Ensaio clínico randomizado de interrupção do metotrexato por 2 semanas após cada dose da vacina CoronaVac para SARS-CoV-2 em pacientes com artrite reumatoide / Carlo Scognamiglio Renner Araujo; Ana Cristina de Medeiros Ribeiro, orientadora. -- São Paulo, 2024.

Tese (Doutorado) -- Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1. Artrite reumatoide 2. COVID-19 3. Vacinação 4. Metotrexato
I. Ribeiro, Ana Cristina de Medeiros, orient. II. Título.

USP/FM/DBD-164/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Lília e Roberto, por terem me dado vida, cuidado, carinho e liberdade para seguir meu próprio caminho.

Aos meus irmãos e amigos, balizas da minha personalidade.

À minha esposa e companheira Karen, pelo apoio, acolhimento e amor irrestrito.

Às professoras Eloísa Bonfá e Rosa Pereira (*in memoriam*), pelo exemplo de liderança, ética de trabalho e excelência em pesquisa.

À toda equipe que tornou possível esse projeto ousado, realizado no auge da pandemia de COVID-19.

Aos pacientes, que confiaram na ciência e em nós.

Por fim, à Dra. Ana Cristina Medeiros Ribeiro, orientadora, amiga, exemplo de médica e cientista, a quem dedico essa tese. Obrigado por acreditar e confiar em mim, obrigado pela dedicação incansável para produção de ciência de qualidade. Sem seu apoio nada disso teria sido possível.

RESUMO

Araujo CSR. Ensaio clínico randomizado de interrupção do metotrexato por 2 semanas após cada dose da vacina CoronaVac para SARS-CoV-2 em pacientes com artrite reumatoide [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2024.

Introdução: Pacientes com artrite reumatoide (AR) que usam metotrexato (MTX) apresentam resposta vacinal diminuída. A interrupção temporária do MTX aumentou a imunogenicidade da vacina para influenza em pacientes com AR, porém essa estratégia ainda não foi avaliada em vacinas anti-SARS-CoV-2.

Objetivos: Avaliar o efeito na imunogenicidade e a segurança da interrupção temporária do MTX por 2 semanas após cada dose da Sinovac-CoronaVac em pacientes com AR.

Métodos: Ensaio clínico unicêntrico, randomizado, cego para os investigadores, desenhado para avaliar a superioridade na imunogenicidade da interrupção temporária do MTX (grupo Parar-MTX) por 2 semanas vs. manutenção do MTX (grupo Manter-MTX) após cada dose da Sinovac-CoronaVac em pacientes com AR bem controlada. Foram incluídos pacientes com AR, ≥ 18 anos, CDAI ≤ 10 e dose de prednisona oral $\leq 7,5$ mg/dia. Critérios de exclusão: infecção por COVID-19 confirmada por rt-PCR durante o estudo, violação do protocolo e uso de rituximabe no último ano. Pacientes foram randomizados na razão de 1:1 e avaliados em 3 momentos: D0 (primeira dose da vacina), D28 (segunda dose) e D69 (6 semanas após a segunda dose). Os desfechos coprimários foram a soroconversão (SC) definida pela positividade de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 em pacientes previamente negativos, e a positividade de anticorpos neutralizantes (AcN), ambos no D69. Desfechos secundários: SC e AcN no D28, média geométrica dos títulos (MGT) de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 e fator incremental da MGT (FI-MGT) desses anticorpos no D28 e D69, frequência de reativação da AR (CDAI > 10) no D28 e D69, e segurança vacinal. Para análise de imunogenicidade, foram excluídos pacientes com IgG/AcN positivos no D0 e, por motivo de segurança, pacientes do grupo Parar-MTX que tiveram reativação (CDAI > 10) no D28, pois não interromperam o MTX após a segunda dose.

Resultados: Um total de 138 pacientes foram randomizados, com 9 exclusões posteriores (5 por COVID-19, 4 por violação de protocolo): 60 pacientes foram alocados no grupo Parar-MTX e 69 pacientes no grupo Manter-MTX. Para a análise de imunogenicidade foram excluídos pacientes positivos para anticorpos IgG ou AcN pré-vacinação (13 [21,7%] vs. 14 [20,3%], $p=0,848$) e 10 pacientes (21,3%) com CDAI>10 no D28 no grupo Parar-MTX. Os grupos eram comparáveis em respeito à idade (mediana [intervalo interquartil]: 61,0 [52,0-70,5] no Parar-MTX vs. 58,0 [49,0-68,0] no Manter-MTX, $p=0,395$) e sexo feminino (51 [85%] vs. 63 [91%], $p=0,265$). No D69, o grupo Parar-MTX ($n=37$) apresentou maior taxa de SC do que o grupo Manter-MTX ($n=55$) (29 [78,4%] vs. 30 [54,5%], $p=0,019$), com concomitante maior MGT (34,2 [25,2-46,4] vs. 16,8 [11,9-23,6], $p=0,006$). Não houve diferença na positividade de AcN (23 [62,2%] vs. 27 [49,1%], $p=0,217$). As taxas de reativação foram comparáveis no D28 (CDAI>10 em 13 [21,7%] no grupo Parar-MTX vs. 8 [11,6%] no Manter-MTX, $p=0,122$), mas foram maiores no grupo Parar-MTX no D69 (23 [38,3%] vs. 14 [20,3%], $p=0,024$). A vacina foi bem tolerada, sem eventos adversos graves. Após a segunda dose da vacina, o grupo Parar-MTX reportou mais mialgias (10 [14,9%] vs. 3 [1,8%], $p=0,037$) e vertigem (7 [11,7%] vs. 1 [1,5%], $p=0,024$) que o grupo Manter-MTX.

Conclusão: A interrupção do MTX por 2 semanas após cada dose da Sinovac-CoronaVac aumentou a resposta de anticorpos IgG, principalmente em pacientes >60 anos. Entretanto, houve mais reativação da AR ao final do estudo no grupo Parar-MTX, o que pode ser parcialmente devido ao curto intervalo entre as doses vacinais. Essa estratégia requer monitoramento frequente e decisão compartilhada devido ao risco de reativação da AR.

Descritores: Artrite reumatoide, COVID-19, Vacinação, Metotrexato

ABSTRACT

Araujo CSR. Randomized clinical trial of 2-week interruption of methotrexate after each dose of the CoronaVac vaccine for SARS-CoV-2 in rheumatoid arthritis patients [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2024.

Introduction: Patients with rheumatoid arthritis (RA) that are on methotrexate (MTX) have an impaired vaccine response. Temporary interruption of MTX has augmented the immunogenicity to the influenza vaccine in RA patients, however this strategy has not been evaluated for anti-SARS-CoV-2 vaccines.

Objective: To evaluate the effect on immunogenicity and safety of 2-week MTX discontinuation after each dose of the Sinovac-CoronaVac vaccine.

Methods: This was a single-centre, prospective, randomised, investigator-blinded, intervention study, designed to evaluate the superiority in vaccine immunogenicity of withdrawing MTX (MTX-hold group) for 2 weeks vs. maintaining MTX (MTX-maintain group) after each dose of the Sinovac-CoronaVac in patients with well controlled RA. Inclusion criteria were adult patients with RA, ≥ 18 years of age, CDAI ≤ 10 and oral prednisone ≤ 7.5 mg/day. Exclusion criteria: COVID-19 infection confirmed by rt-PCR during the study, protocol violation and rituximab use in the last year. Patients were randomized in a 1:1 ratio and evaluated in 3 time points: D0 (first vaccine dose), D28 (second vaccine dose) and D69 (6 weeks after second dose). Coprimary outcomes were anti-SARS-CoV-2 S1/S2 IgG seroconversion (SC), defined by positive anti-SARS-CoV-2 S1/S2 IgG in baseline negative patients, and neutralising antibody (NAb) positivity at D69. Secondary outcomes were SC and NAb at D28, geometric mean titres (GMT) of anti-SARS-CoV-2 S1/S2 IgG and GMT factor increase (GMT-FI) of these antibodies at D28 and D69, flare rates (CDAI > 10) at D28 and D69, and vaccine safety. For immunogenicity analyses, patients with positive IgG/NAb at D0 were excluded, and, for safety reasons, those who flared at D28 (CDAI > 10) and did not withdraw MTX twice.

Results: Randomisation included 138 patients with 9 further exclusions (5 COVID-19 infections, 4 protocol violations): 60 patients were allocated in the MTX-hold and 69 patients in the MTX-maintain group. For immunogenicity analyses, we excluded patients with baseline positive IgG or NAb (13 (21.7%) in the MTX-hold group vs. 14 (20.3%) in the MTX-maintain group, $p=0.848$) and 10 patients (21.3%) in MTX-hold

group with CDAI >10 at D28. Groups were comparable regarding age (median [interquartile interval]: 61.0 [52.0-70.5] in MTX-hold vs. 58.0 [49.0-68.0] in MTX-maintain, $p=0.395$) and female sex (51 [85%] vs. 63 [93%], $p=0.265$). At D69, the MTX-hold group ($n=37$) had a higher rate of SC than the MTX-maintain group ($n=55$) (29 [78.4%] vs. 30 [54.5%], $p=0.019$), with parallel augmentation in GMT (34.2 [25.2–46.4] vs. 16.8 [11.9–23.6], $p=0.006$). No differences were observed for NAb positivity (23 [62.2%] vs. 27 [49.1%], $p=0.217$). Flare rates were comparable at D28 (CDAI>10 in 13 [21.7%] in MTX-hold group vs. 9 [11.6%] in MTX-maintain group, $p=0.122$) but were higher in MTX-hold group at D69 (23 [38.3%] vs. 14 [20.3%], $p=0.024$). Vaccine was well tolerated with no severe adverse effects. After the second vaccine dose, the MTX-hold group reported higher rates of myalgia (10 [14.9%] vs. 3 [1.8%], $p=0.037$) and vertigo (7 [11.7%] vs. 1 [1.5%], $p=0.024$) than MTX-maintain group.

Conclusion: Two-week MTX withdrawal after each dose of the Sinovac-CoronaVac vaccine improves anti-SARS-CoV-2 IgG response. However, higher flare rates were seen at D69 in the MTX-hold group, which may be attributed to the short-term interval between vaccine doses. This strategy requires close surveillance and shared decision making due to the possibility of flares.

Descriptors: Rheumatoid arthritis, COVID-19, Vaccination, Methotrexate

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fluxograma CONSORT de inclusões e exclusões do estudo 21
- Figura 2 - Frequência de IgG anti-SARS-CoV-2 e anticorpos neutralizantes nos D28 e D69 nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX. 24
- Figura 3 - Diagrama de caixa de títulos de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 pré-vacinação (D0) e após a primeira (D28) e segunda dose da vacina (D69) de acordo com os grupos Parar-MTX e Manter-MTX. 25
- Figura 4 - Análise longitudinal das métricas de atividade de doença no início do estudo e após a primeira e segunda dose da vacina nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX. 30

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Características de base dos pacientes com artrite reumatoide (AR) nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX | 22 |
| Tabela 2: Resultados de imunogenicidade referentes à soroconversão (SC), média geométrica dos títulos (MGT), seu fator incremental (FI-MGT), frequência de anticorpos neutralizantes (AcN) e atividade neutralizante após a primeira e segunda dose da CoronaVac em dos grupos Parar-MTX e Manter-MTX | 23 |
| Tabela 3 - Fatores associados à positivação de IgG (soroconversão) ou de AcN após 2 doses da vacina CoronaVac (n=92) | 27 |
| Tabela 4 – Análise de imunogenicidade em pacientes <60 e ≥60 anos no D69 | 28 |
| Tabela 5 - Análise de atividade de doença após a primeira e segunda dose da vacina Sinovac CoronaVac em pacientes com artrite reumatoide | 31 |
| Tabela 6 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério CDAI>10 no D69 | 33 |
| Tabela 7 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério CDAI >10 no D28 | 35 |
| Tabela 8 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério Δ DAS28-PCR >1,2 ou Δ DAS28-PCR >0,6 + DAS28-PCR >3,2 no D69 | 37 |
| Tabela 9 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério Δ CDAI >4,5 no D69 | 39 |
| Tabela 10 – análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério Δ SDAI >4,7 no D69 | 41 |
| Tabela 11: Eventos adversos após primeira e segunda dose da vacina Sinovac-Coronavac | 43 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcN - Anticorpos neutralizantes

ACR - *American College of Rheumatology*

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CDAI - *Clinical Disease Activity Index*

COVID-19 - Doença causada pelo vírus SARS-CoV-2

DAS28-PCR - *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa

DRIM - Doença Reumatológica Imunomediada

EULAR - *European League Against Rheumatism / European Alliance of Associations for Rheumatology*

EVA - Escala Visual Analógica

FI-MGT - Fator Incremental da Média Geométrica dos Títulos

IC - Intervalo de Confiança

MGT - Média Geométrica dos Títulos

MMCD - Medicamento Modificador do Curso da Doença

MTX - Metotrexato

OMERACT - *Outcome Measures in Rheumatology*

RC - Razão de Chances

REDCap - *Research Electronic Data Capture*

RT-PCR - Reação em Cadeia da Polimerase de Transcriptase Reversa

SC - Soroconversão

SDAI - *Simplified Disease Activity Index*

TNF - Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 11 |
| 2. MÉTODOS | 13 |
| 2.1 Desenho do estudo | 13 |
| 2.2 Desfechos | 13 |
| 2.2.1. Desfechos de Imunogenicidade | 13 |
| 2.2.2. Desfechos de Segurança | 14 |
| 2.3 Participantes | 15 |
| 2.3.1. Critérios de inclusão | 15 |
| 2.3.2. Critérios de exclusão | 15 |
| 2.4 Cronograma de avaliações | 16 |
| 2.5 Randomização e mascaramento | 16 |
| 2.6 Intervenção | 17 |
| 2.7 Análise laboratorial | 18 |
| 2.8 Análise estatística | 18 |
| 3. RESULTADOS | 20 |
| 3.1 Desfechos de imunogenicidade | 23 |
| 3.2 Fatores associados à imunogenicidade | 26 |
| 3.2.1 Subanálises de imunogenicidade de acordo com a idade | 28 |
| 3.3 Desfechos de segurança | 28 |
| 3.3.1 Atividade de doença | 28 |
| 3.3.2 Subanálises de atividade de doença pela variação de CDAI e SDAI | 32 |
| 3.3.3 Preditores de reativação da artrite reumatoide | 32 |
| 3.3.4 Avaliação de desfechos após o estudo | 42 |
| 3.3.5 Eventos adversos da vacina | 42 |
| 4. DISCUSSÃO | 44 |
| 5. CONCLUSÃO | 49 |
| REFERÊNCIAS | 50 |
| ANEXOS | 56 |

1 INTRODUÇÃO

A pandemia de COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, impactou o mundo no espectro social, econômico e sanitário¹. O Brasil foi um dos países mais afetados, com centenas de milhares de mortes pelo vírus². A vacina Sinovac-CoronaVac (Sinovac Life Sciences, Pequim, China) foi aprovada em regime emergencial pela ANVISA em janeiro de 2021³, e foi amplamente utilizada no esquema inicial de vacinação no Brasil⁴. Trata-se de uma vacina inativada da cepa CNO2 do SARS-CoV-2, adjuvantada e aplicada em duas doses com intervalo de 2 a 4 semanas entre elas. Um estudo com mais de 10 milhões de participantes demonstrou efetividade de 65,9% para prevenção de COVID-19, 87,5% para prevenção de hospitalização, 90,3% para internação em unidades de terapia intensiva e 86,3% para prevenção de morte relacionada à COVID-19, após duas doses da vacina⁵.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória autoimune sistêmica, na qual há desregulação dos sistemas imunes inato e adquirido na sua patogênese⁶. Pacientes com AR apresentam maior risco de hospitalização e morte por COVID-19 devido a comorbidades^{7,8,9} ou ao uso de imunossupressores^{7,8,9,10}. Além disso, pacientes com AR têm menor resposta humoral às vacinas de COVID-19^{11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22} especialmente quando em uso de rituximabe^{12,13,14,15,16,17,18}, abatacepte^{12,13,18}, metotrexato^{12,14,19,20,21,22} e glicocorticoides^{11,12,13,19}, sobretudo em combinação²³.

O metotrexato (MTX) é uma medicação amplamente usada em doenças inflamatórias e autoimunes, e representa a primeira linha de tratamento para a AR. Pode ser usado por via oral, subcutânea ou intramuscular em tomadas semanais, na dose que habitualmente varia entre 10 a 25 mg/semana²⁴. Sua meia vida é de 6 horas, e o MTX é indetectável no soro após 18 horas²⁴. Isso ocorre pois o MTX é internalizado pelos tecidos, sofrendo o processo de poliglutamação, impedindo sua saída do meio intracelular e tornando-o mais potente. A presença do MTX-poliglutamato dentro das células explica o porquê da sua ação prolongada mesmo após estar indetectável no sangue periférico²⁴. O MTX age por diversas vias, e sua ação não é completamente compreendida²⁴. É um análogo estrutural ao ácido fólico, e compete pela ligação na diidrofolato redutase, enzima responsável por reduzir o ácido diidrofólico a ácido

folínico (FH4), com isso diminuindo a concentração intracelular de FH4 e inibindo as vias de síntese de purinas e pirimidinas. Isso leva a uma inibição da replicação celular em diversos tecidos, como por exemplo dos linfócitos, o que pode justificar o seu impacto na resposta vacinal²⁵. O MTX também inibe a enzima aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleotídeo (AICAR) transformilase, levando ao aumento da concentração intracelular de AICAR, que por sua vez leva ao aumento extracelular de adenosina, uma substância anti-inflamatória que pode ser responsável pelos efeitos do MTX na AR²⁴.

A interrupção temporária de imunossupressores é uma possível estratégia para aumentar a imunogenicidade de vacinas em pacientes com doenças reumatológicas imunomediadas (DRIM)^{20,21,26}. Park e colegas^{20,21} demonstraram que a pausa temporária do MTX aumentava a resposta humoral à vacina sazonal de influenza em pacientes com AR, com a conclusão de que a suspensão do MTX por duas doses era mais segura e igualmente eficaz que a suspensão por quatro doses^{27,28}. Devido a esses resultados, na época da elaboração do presente trabalho o *American College of Rheumatology* (ACR) publicou a versão de recomendações vacinais em pacientes com DRIM que indicava a interrupção do MTX por 1-2 doses após a vacinação para COVID-19^{29,30}.

No entanto, até a realização do presente estudo, a estratégia de interrupção temporária do MTX não havia sido estudada para a vacinação de COVID-19. Assim, este estudo teve como meta avaliar a imunogenicidade e a segurança da descontinuação do MTX por duas semanas após cada dose da vacinação do esquema básico com a CoronaVac em pacientes com AR em remissão ou baixa atividade de doença, em comparação com pacientes similares que mantiveram o uso da medicação.

2 MÉTODOS

2.1 Desenho do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, cego para os investigadores, unicêntrico, realizado no serviço terciário de reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Brasil. Todos os pacientes incluídos no estudo eram acompanhados neste serviço, com diagnóstico de AR conforme os critérios classificatórios ACR/EULAR de 2010³¹, concordaram em participar do estudo e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido. O protocolo realizado neste estudo foi parte de um projeto maior de imunização em pacientes com DRIM (ClinicalTrials.gov: NCT04754698)¹³. Pacientes e público geral não foram envolvidos no desenho, condução, publicação ou divulgação do presente estudo.

2.2 Desfechos

2.2.1 Desfechos de Imunogenicidade

Os desfechos coprimários foram a soroconversão (SC), definida como positividade de anticorpos IgG Anti-SARS-CoV-2 S1/S2 em pacientes soronegativos no início do estudo (D0), e a presença de anticorpos neutralizantes (AcN) no dia 69 (D69). Desfechos secundários relacionados à imunogenicidade foram SC e AcN no dia 28 (D28), média geométrica dos títulos (MGT) e fator incremental da MGT (FI-MGT) para anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2, e atividade de AcN nos D28 e D69. Foi realizada uma análise de sensibilidade para a avaliação de SC e FI-MGT no D69 em pacientes estratificados por idade (<60 e ≥60 anos).

2.2.2 Desfechos de Segurança

Os pacientes foram instruídos a preencher um diário de sintomas locais e sistêmicos após cada dose da vacina para avaliação de potenciais eventos adversos vacinais. A gravidade dos eventos adversos foi classificada de acordo com as definições da Organização Mundial de Saúde (OMS)³².

A atividade de doença foi avaliada nos D0, D28 e D69 por reumatologistas experientes em AR e cegos para a alocação dos pacientes nos grupos. Foram considerados os seguintes parâmetros: número de articulações dolorosas e número de articulações edemaciadas (ambas na esfera da contagem de 28 articulações), avaliação visual global da doença (AVG) pelo paciente, AVG pelo médico. Com esses dados foi possível o cálculo do *Clinical Disease Activity Index* (CDAI)³³. Em adição, era dosada a proteína C-reativa (PCR) em cada visita, tornando possível o cálculo do *Disease Activity Score* em 28 articulações com proteína C-reativa (DAS28-PCR)³⁴ e do *Simplified Disease Activity Index* (SDAI)³³.

Assim, os desfechos secundários relacionados à segurança foram a variação longitudinal do CDAI, SDAI, DAS28-PCR e frequência de eventos adversos relacionados à vacinação. Desfechos exploratórios incluíram a frequência de reativação da AR no D28 e D69, definido como $CDAI > 10$ ^{35,36} ou aumento $\geq 1,2$ no DAS28-PCR (ou $\geq 0,6$ se o DAS28-PCR de base era $> 3,2$)^{37,38}. Por fim, também foi avaliado a percepção de piora da atividade de doença pelo paciente.

Ao final do estudo, os pacientes foram divididos entre reativadores (CDAI > 10 no D69) vs. não reativadores (CDAI ≤ 10 no D69), e foram avaliados aspectos demográficos, características da AR, medicamentos e alocação no estudo (Parar-MTX vs. Manter-MTX). Foi feita uma pesquisa do prontuário eletrônico dos pacientes classificados como reativadores nos 6 meses seguintes à última visita do estudo para avaliar se houve persistência no aumento da atividade de doença, se houve troca na medicação imunossupressora e, em caso de troca de medicação, se foi motivada por atividade de doença persistente após o estudo.

Após a finalização das análises deste estudo foram publicadas as definições de reativação da AR por variação do CDAI ($\geq 4,5$ pontos) e do SDAI ($\geq 4,7$ pontos)³⁹.

Com isso, os dados de variação do CDAI e SDAI ao longo do estudo foram revistos para avaliar a taxa de reativação da AR pelos novos critérios.

2.3 Participantes

2.3.1 Critérios de inclusão

Foram recrutados pacientes adultos (≥ 18 anos), com diagnóstico estabelecido de AR conforme os critérios de classificação ACR/EULAR 2010³¹, em baixa atividade de doença (CDAI ≤ 10)³³ no D0 em dose estável de MTX nas últimas 12 semanas (em monoterapia ou em conjunto com outros medicamentos modificadores do curso da doença – MMCDs). Foi permitido uso concomitante de prednisona oral até a dose de 7,5 mg/dia.

2.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pacientes que no D0 apresentassem:

- Doença febril aguda ou sintomas sugestivos de COVID-19;
- História de anafilaxia por algum componente da vacina;
- Doença neurológica desmielinizante;
- Insuficiência cardíaca congestiva descompensada (classe funcional III/IV);
- Hemotransfusão nos últimos 6 meses;
- Vacina inativada nas últimas 2 semanas;
- Vacina com vírus vivo atenuado nas últimas 4 semanas;
- Recusa a participar do estudo;
- Hospitalização;
- Vacinação prévia com qualquer vacina para SARS-CoV-2;
- COVID-19 confirmado por rt-PCR durante o estudo;
- Uso de rituximabe nos últimos 12 meses.

Pacientes que apresentaram sorologia positiva para COVID-19 (anti-S1/S2 IgG ou AcN) no D0 (pré-vacinação) foram excluídos das análises de imunogenicidade, mas mantidos para as avaliações de segurança.

2.4 Cronograma de avaliações

Pacientes foram avaliados em 3 visitas: D0 (primeira dose da vacina), D28 (segunda dose) e D69 (6 semanas após a segunda dose). A primeira dose (D0) foi aplicada nos dias 9 ou 10 de fevereiro de 2021 e a segunda dose (D28) nos dias 9 ou 10 de março de 2021.

2.5 Randomização e mascaramento

Os pesquisadores envolvidos na avaliação de atividade da doença, estatísticos, equipe de laboratório e equipe de vacinação eram cegos para a alocação dos grupos. Somente dois pesquisadores (CSRA e MSRS) não eram cegos, e foram responsáveis por explicar os protocolos para cada paciente alocado em cada braço do estudo, e pelo seguimento dos pacientes por telefone ao longo do estudo, para garantir adesão ao protocolo e monitorização de desfechos de segurança.

Foi realizada uma pré-avaliação do prontuário eletrônico, buscando nos últimos 3 meses pacientes que se encaixavam nos critérios de inclusão/exclusão. Esses pacientes foram convocados para a vacinação. No D0, antes da primeira dose da vacina, os pacientes foram avaliados por reumatologistas experientes em AR que checaram a atividade de doença pelo CDAI. Pacientes com CDAI ≤ 10 foram encaminhados para a estação de randomização, onde os dois pesquisadores não cegos recheckaram os critérios de inclusão/exclusão, revisaram e explicaram o protocolo para o paciente, aplicaram o termo de consentimento livre e esclarecido e conduziram a randomização, que foi realizada através do software “the REDcap Project” versão 10.5.0. A alocação foi instantânea, na razão de 1:1 para os braços:

interromper o MTX por 2 semanas após cada dose da CoronaVac (grupo Parar-MTX) ou manter o MTX (grupo Manter-MTX).

Nos D28 e D69 os pacientes foram inicialmente avaliados pelos pesquisadores não-cegos para checagem de violação de protocolo e instrução de não divulgarem qual grupo pertenciam para outros pesquisadores. Então, foram encaminhados para a avaliação cega do CDAI. Em seguida, retornaram aos pesquisadores não-cegos e receberam o restante das instruções.

2.6 Intervenção

No D0, os investigadores não-cegos instruíram os pacientes do grupo Parar-MTX a não tomar as duas doses subsequentes do MTX após a vacinação. Foi disponibilizado um diagrama simples (**Anexo C**) informando as datas nas quais não tomariam o MTX, e a data que reiniciariam o uso da medicação.

No D28, os pacientes no grupo Parar-MTX que apresentaram CDAI ≤ 10 foram instruídos a suspender o MTX novamente e receberam um novo diagrama de datas (fig. 1). Pacientes com CDAI > 10 no grupo Parar-MTX foram orientados a não suspender o MTX após a segunda dose da vacina. Pacientes do grupo Manter-MTX foram instruídos a manter o MTX no dia rotineiro de tomada e na mesma dose durante todo o estudo. Os dois investigadores não-cegos checaram a adesão ao protocolo em cada visita e por telefone nas semanas seguintes às visitas.

Não era permitida a adição ou a modificação do esquema terapêutico de MMCDs até o D69. No entanto, os pacientes podiam usar analgésicos, anti-inflamatórios não-esteroidais e prednisona até 10 mg/dia em caso de piora da atividade de doença.

2.7 Análise laboratorial

Amostras de sangue (30 mL) foram coletadas imediatamente antes da aplicação da vacina (D0 e D28) e 6 semanas após a segunda dose (D69). O material foi guardado em refrigeração a -70°C . Foi realizada a dosagem de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 através de ensaio imunológico quimioluminescente (ELISA indireto, LIAISON, DiaSorin, Itália). SC foi definida como sorologia positiva, medida em unidades arbitrárias por mililitro (UA/mL) ($\geq 15,0$ UA/mL)^{40,41} em pacientes com sorologia negativa no D0. MGT e intervalo de confiança 95% (IC95%) foram calculados atribuindo um valor de 1,9 UA/mL para os níveis indetectáveis ($< 3,8$ UA/mL). O FI-MGT foi calculado como média geométrica da razão dos títulos de IgG após a dose de vacina sobre os títulos de IgG antes da dose da vacina. A detecção de AcN foi realizada utilizando o kit de neutralização do vírus SARS-CoV-2 (sVNT – GenScript, Piscataway, Nova Jersey, Estados Unidos)⁴². A atividade de AcN foi definida como a porcentagem da inibição da interação entre o domínio de ligação do receptor da glicoproteína *spike* viral com o receptor de superfície celular ACE-2. Positividade foi definida como $\geq 30\%$ de inibição dessa interação⁴². A mediana (e intervalos interquartis) só foram calculados para amostras positivas. Também foi realizada a dosagem da proteína C-reativa por nefelometria.

2.8 Análise estatística

O tamanho da amostra para o presente estudo foi calculado com base na experiência de vacinação de 2009 para influenza A/H1N1 com vacina não-adjuntada em pacientes com AR em uso de MTX, na qual foi vista uma taxa de SC de 46%⁴³. Com base nos estudos de interrupção temporária de MTX com vacinação para influenza^{20,21}, foi pressuposto um incremento de 20% na imunogenicidade no grupo Parar-MTX levando a uma taxa de SC de 66%. Com uma taxa de erro alfa de 5% e poder de 80% (razão de 1:1 entre os grupos), a amostra mínima deveria ser de 96 pacientes por grupo.

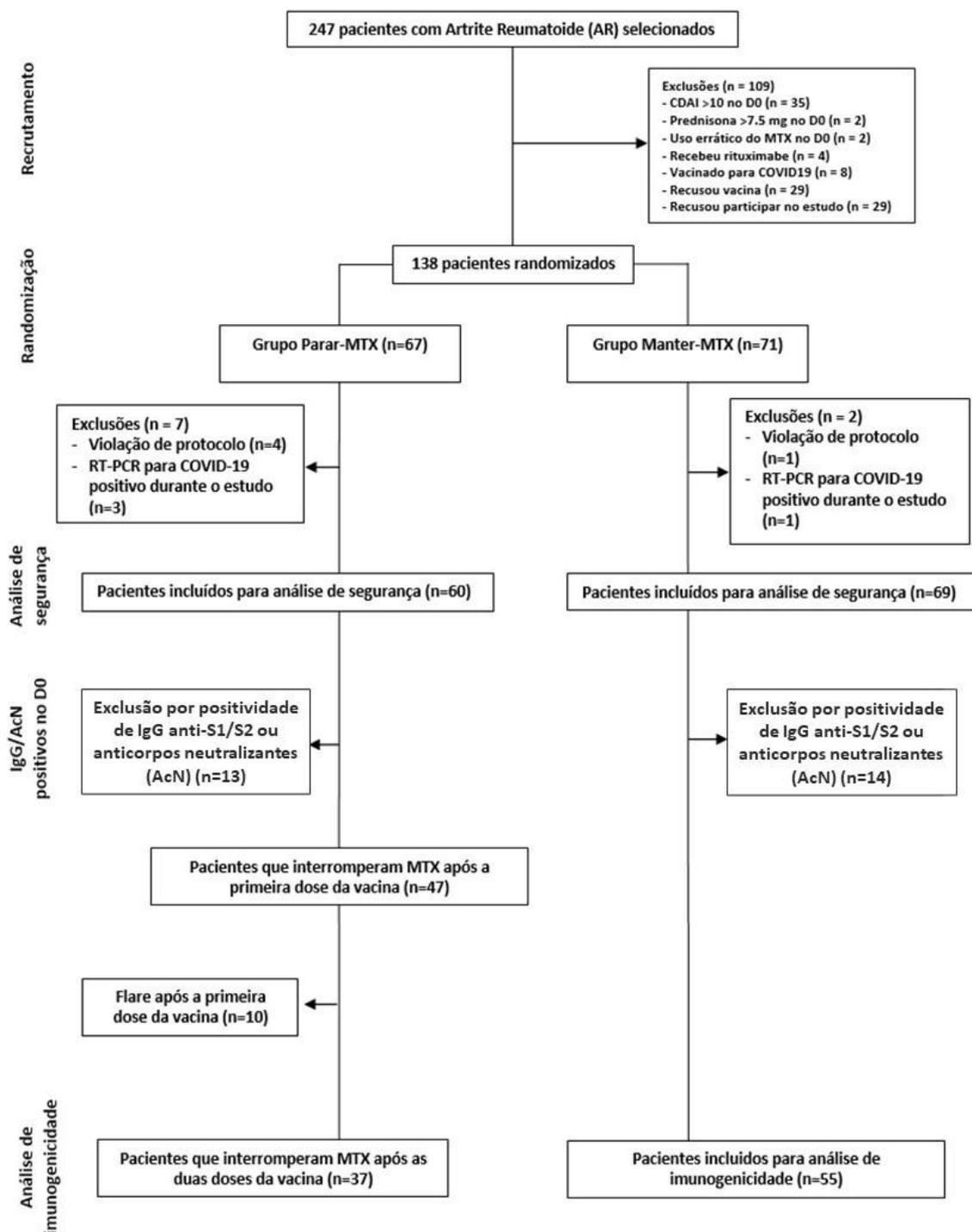
Variáveis categóricas são apresentadas como número (porcentagem) e comparadas usando os testes qui-quadrado (χ^2) ou Fisher, quando apropriados. Já as variáveis contínuas são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e comparadas com os testes T de Student ou Mann-Whitney, quando adequados. Dados referentes aos títulos de IgG e escores de atividade de doença em diferentes pontos no tempo foram analisados usando equações de estimativa generalizada com distribuição marginal normal e distribuição gama, respectivamente, e função-identidade assumindo matriz de correlação autorregressiva de primeira ordem entre os momentos na comparação dos dois grupos, seguido por múltiplas comparações de Bonferroni. Os títulos de IgG foram analisados com transformação em logaritmo Neperiano. Múltiplas regressões logísticas foram realizadas utilizando SC, positividade de AcN, reativação pelos critérios de CDAI >10, variação do DAS28, variação do CDAI ou variação do SDAI no D69 como as variáveis dependentes, e como variáveis independentes aquelas que obtiveram $p < 0,2$ na análise univariada. Significância estatística foi definida como $p < 0,05$. Todas as análises estatísticas foram realizadas pelo software *Statistical Package for the Social Sciences V 20.0*.

3 RESULTADOS

A análise de prontuários eletrônicos pré-selecionou 247 pacientes. Após critérios de exclusão, 138 pacientes permaneceram elegíveis e foram randomizados: 67 no grupo Parar-MTX e 71 no grupo Manter-MTX (**Figura 1**). Ao longo do estudo houve mais 9 exclusões: cinco por COVID-19 confirmado com rt-PCR e quatro por violação de protocolo. Com isso, os grupos finais para as análises de segurança consistiam em 60 pacientes no grupo Parar-MTX e 69 pacientes no grupo Manter-MTX. Para a análise de imunogenicidade foram excluídos pacientes com sorologia positiva para IgG anti-SARS-CoV-2 ou AcN no D0 (13 [21,7%] vs. 14 [20,3%], respectivamente, $p=0,848$). Assim, para as análises dos D0 e D28, os grupos eram compostos por 47 pacientes no grupo Parar-MTX e 55 no grupo Manter-MTX. Dos 47 pacientes no grupo Parar-MTX, 10 (21,3%) tiveram reativação da AR no D28 e, por isso, não interromperam o MTX após a segunda dose de vacina; portanto, 37 pacientes finalizaram o protocolo de interrupção de MTX e foram considerados para a análise de imunogenicidade do D69.

Os grupos apresentavam distribuição similar de idade e sexo ($p>0,05$). Outras características demográficas, comorbidades, duração de doença, atividade de doença no D0, fator reumatoide, anti-CCP e terapia medicamentosa foram comparáveis entre os grupos ($p>0,05$), exceto por uso de prednisona, que foi mais frequente no grupo Parar-MTX na análise de segurança ($p=0,021$) (**Tabela 1**).

Figura 1 – Fluxograma CONSORT de inclusões e exclusões do estudo



CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; CONSORT – *Consolidated Standards of Reporting Trials*; D0 – dia 0; MTX – metotrexato; rt-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase de Transcriptase Reversa

Tabela 1 – Características de base dos pacientes com artrite reumatoide (AR) nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX

| | Análise de segurança | | | Análise de imunogenicidade | | |
|-----------------------------|----------------------|----------------------|----------|----------------------------|----------------------|----------|
| | Parar-MTX (n=60) | Manter-MTX (n=69) | <i>p</i> | Parar-MTX (n=37) | Manter-MTX (n=55) | <i>p</i> |
| Idade atual, anos | 61 (52-70,5) | 58 (49-68) | 0,395 | 59 (45-68) | 59 (51,5-68) | 0,828 |
| Sexo feminino | 51 (85,0) | 63 (91,3) | 0,265 | 34 (91,9) | 50 (90,9) | >0,999 |
| Cor branca | 28 (46,7) | 29 (42) | 0,597 | 19 (51,4) | 25 (45,5) | 0,579 |
| Parâmetros de doença | | | | | | |
| Duração da doença | 17 (10-30,5) | 17 (10-24) | 0,801 | 19 (10-28) | 17 (10-25) | 0,616 |
| FR positivo | 48 (80) | 53/68*(77,9) | 0,776 | 31 (83,8) | 44 (80) | 0,647 |
| Anti-CCP positivo | 27/37* (73) | 35/47* (74,5) | 0,877 | 17/22* (77,3) | 26/36* (72,2) | 0,670 |
| PCR, mg/dL | 4,4 (1,1-9,3) | 3,7 (1,6-7,0) | 0,655 | 5,6 (1,0-9,6) | 4,0 (2,5-7,5) | 0,847 |
| CDAI | 7,0 (4,0-9,0) | 6,0 (3,0-8,0) | 0,485 | 6,0 (2,0-8,0) | 6,0 (3,0-8,0) | 0,548 |
| SDAI | 7,1 (4,1-10,1) | 6,3 (3,9-9,3) | 0,380 | 6,8 (3,1-9,4) | 6 (3,8-8,3) | 0,618 |
| DAS28-PCR | 2,72 (2,10-3,15) | 2,33 (1,96-2,82) | 0,178 | 2,43 (1,80-3,15) | 2,34 (2,02-2,87) | 0,927 |
| CDAI ≤2,8 | 11 (18,3) | 10 (14,5) | 0,556 | 10 (27) | 8 (14,5) | 0,139 |
| SDAI ≤3,3 | 12 (20) | 14 (20,3) | 0,967 | 12 (32,4) | 11 (20) | 0,177 |
| DAS28-PCR ≤2,6 | 30 (50) | 46 (66,6) | 0,055 | 21 (56,8) | 36 (65,5) | 0,400 |
| Critério Booleano | 9 (15) | 14 (20,3) | 0,434 | 9 (24,3) | 12 (21,8) | 0,779 |
| Tratamento atual | | | | | | |
| Prednisona | 33 (55) | 24 (34,8) | 0,021 | 19 (51,4) | 18 (32,9) | 0,074 |
| Dose, mg/dia | 5 (4,38-5) | 5 (5-5) | 0,495 | 5 (2,5-5) | 5 (5-5) | 0,336 |
| Dose de MTX | 20 (17,5-25) | 20 (15-25) | 0,397 | 20 (15-25) | 20 (15-25) | 0,314 |
| 10-15 mg/semana | 16 (26,7) | 23 (33,3) | 0,411 | 11 (29,7) | 20 (36,4) | 0,509 |
| 17,5-25 mg/semana | 44 (73,3) | 46 (66,7) | | 26 (70,3) | 35 (63,6) | |
| MTX em monoterapia | 13 (21,7) | 18 (26,1) | 0,558 | 9 (24,3) | 16 (29,1) | 0,614 |
| Leflunomida | 8 (13,3) | 17 (24,6) | 0,105 | 6 (16,2) | 13 (23,6) | 0,389 |
| Sulfassalazina | 1 (1,7) | 0 | 0,465 | 1 (2,7) | 0 | 0,402 |
| Hidroxicloroquina | 7 (11,7) | 16 (23,2) | 0,088 | 4 (10,8) | 13 (23,6) | 0,172 |
| Tofacitinibe | 2 (3,3) | 3 (4,3) | >0,999 | 1 (2,7) | 3 (5,5) | 0,646 |
| Anti-TNF | 14 (23,3) | 11 (15,9) | 0,290 | 10 (27) | 8 (14,5) | 0,139 |
| Abatacepte | 7 (11,7) | 9 (13) | 0,813 | 6 (16,2) | 7 (12,7) | 0,638 |
| Tocilizumabe | 4 (6,7) | 3 (4,3) | 0,704 | 1 (2,7) | 1 (1,8) | >0,999 |

Resultados são expressos em mediana (intervalo interquartil) e n (%). Variáveis contínuas foram comparadas usando o teste de Mann-Whitney ou T de Student, e variáveis categóricas usando o qui-quadrado ou teste de Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. Para análises de segurança, todos os pacientes que aderiram ao protocolo foram incluídos. Para análises de imunogenicidade, pacientes com IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 ou anticorpos neutralizantes positivos no D0 foram excluídos de ambos os grupos, e pacientes com CDAI >10 no D28 que interromperam o MTX uma vez foram excluídos do grupo Parar-MTX; * - indica a porcentagem calculada utilizando os dados disponíveis. MTX – metotrexato; FR – fator reumatoide; anti-CCP – anti-peptídeo citrulinado cíclico; CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*; DAS28-PCR - *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa; PCR – proteína C-reativa; TNF – fator de necrose tumoral

3.1 Desfechos de imunogenicidade

As MGT de IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 foram comparáveis entre os grupos no D0 (2,1 [1,9-2,3] vs. 2,0 [1,9-2,1], $p>0,999$). No D69, pacientes que interromperam o MTX após as duas doses de vacina (Parar-MTX, $n=37$) apresentavam maior taxa de SC ($p=0,019$) com concomitante aumento da MGT ($p=0,006$) e com maior FI-MGT ($p=0,007$) em comparação ao grupo Manter-MTX ($n=55$) (**Tabela 2, Figuras 2 e 3**). Em relação à positividade de AcN e atividade neutralizante, não houve diferença significativa (**Tabela 2, Figura 2**).

Tabela 2 – Resultados de imunogenicidade referentes à soroconversão (SC), média geométrica dos títulos (MGT), seu fator incremental (FI-MGT), frequência de anticorpos neutralizantes (AcN) e atividade neutralizante após a primeira e segunda dose da CoronaVac em dos grupos Parar-MTX e Manter-MTX

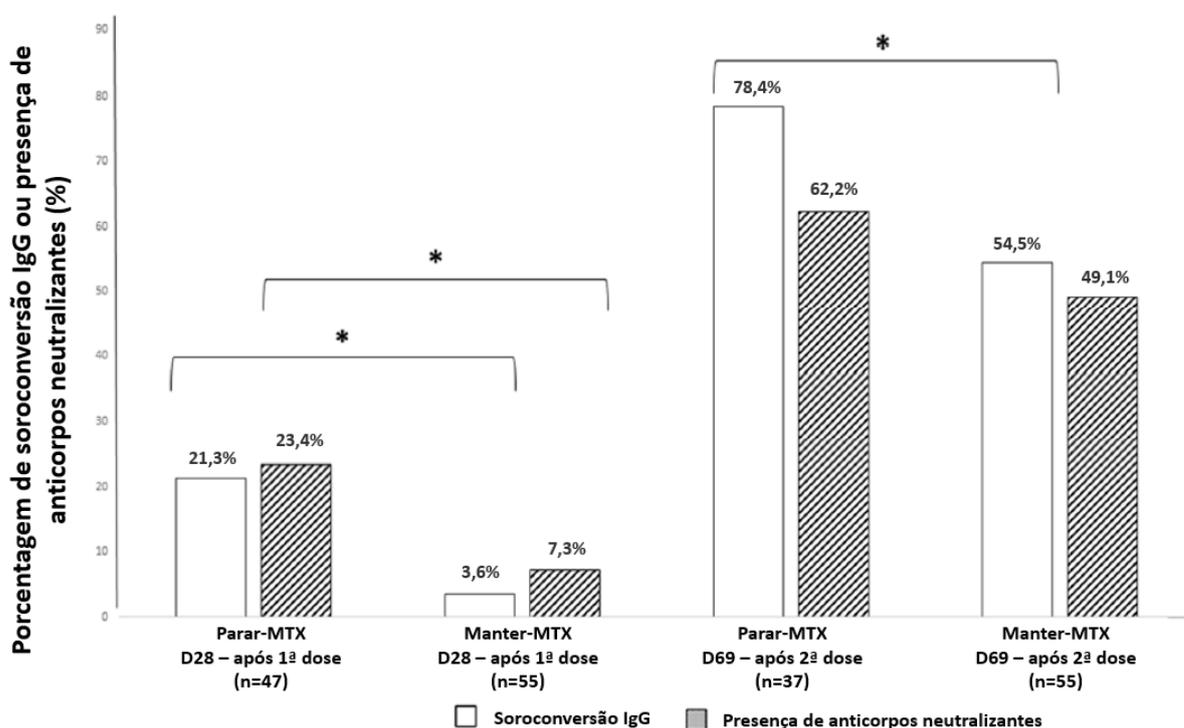
| | Após 1ª dose (D28) | | | Após 2ª dose (D69) | | |
|----------------------------------|---------------------|----------------------|----------|---------------------|----------------------|----------|
| | Parar-MTX (n=47) | Manter-MTX (n=55) | <i>p</i> | Parar-MTX (n=37) | Manter-MTX (n=55) | <i>p</i> |
| IgG anti-S1/S2 | | | | | | |
| Soroconversão, n (%) | 10 (21,3) | 2 (3,6) | 0,011 | 29 (78,4) | 30 (54,5) | 0,019 |
| MGT | 5,7 (4,3-7,5) | 2,8 (2,3-3,5) | 0,002 | 34,2 (25,2-46,4) | 16,8 (11,9-23,6) | 0,003 |
| FI-MGT | 2,9 (2,2-3,7) | 1,4 (1,1-1,7) | <0,001 | 17,1 (12,6-23,1) | 8,1 (5,8-11,4) | 0,007 |
| Anticorpos neutralizantes | | | | | | |
| Positividade de AcN, n (%) | 11 (23,4) | 4 (7,3) | 0,027 | 23 (62,2) | 27 (49,1) | 0,217 |
| Atividade neutralizante | 41,7 (37,0-46,0) | 57,7 (51,8-65,9) | 0,133 | 53 (42-68,8) | 51,7 (37,8-62,2) | 0,335 |

Parar-MTX – pacientes soronegativos no D0 randomizados para interromper o MTX após a 1ª e 2ª dose vacinal ($n=47$ no D28 e $n=37$ no D69 devido à 10 pacientes com reativação da artrite reumatoide no D28 e não interromperam o MTX na segunda vez). Manter-MTX – pacientes soronegativos no D0 randomizados a manter o MTX durante o estudo e que aderiram ao protocolo ($n=55$). Soroconversão (SC) foi definida como título pós-vacinação ≥ 15 UA/mL por ELISA indireto (LIAISON IgG SARS-CoV-2 S1/S2). Positividade para anticorpos neutralizantes (AcN) foi definido como atividade neutralizante $\geq 30\%$ (kit cPass sVNT). Frequências de SC ou positividade de AcN são apresentadas como n (%) e

foram comparadas nos dias 28 (D28) e 69 (D69) utilizando testes de qui-quadrado ou Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. Títulos de IgG são expressos em média geométrica (MGT) e seu fator incremental como FI-MGT utilizando intervalo de confiança de 95% (IC95%). As análises dos títulos de IgG foram realizadas como dados transformados em logaritmo neperiano utilizando equações de estimativa generalizada com distribuição marginal normal e distribuição gama, respectivamente, e função-identidade assumindo matriz de correlação autorregressiva de primeira ordem entre os momentos na comparação dos dois grupos, seguido por múltiplas comparações de Bonferroni. A atividade neutralizante é expressa como mediana (intervalo interquartil). FI-MGT e atividade neutralizante foram comparados utilizando os testes de Mann-Whitney e T de Student, conforme apropriado, em análises bicaudais nos D28 e D69.

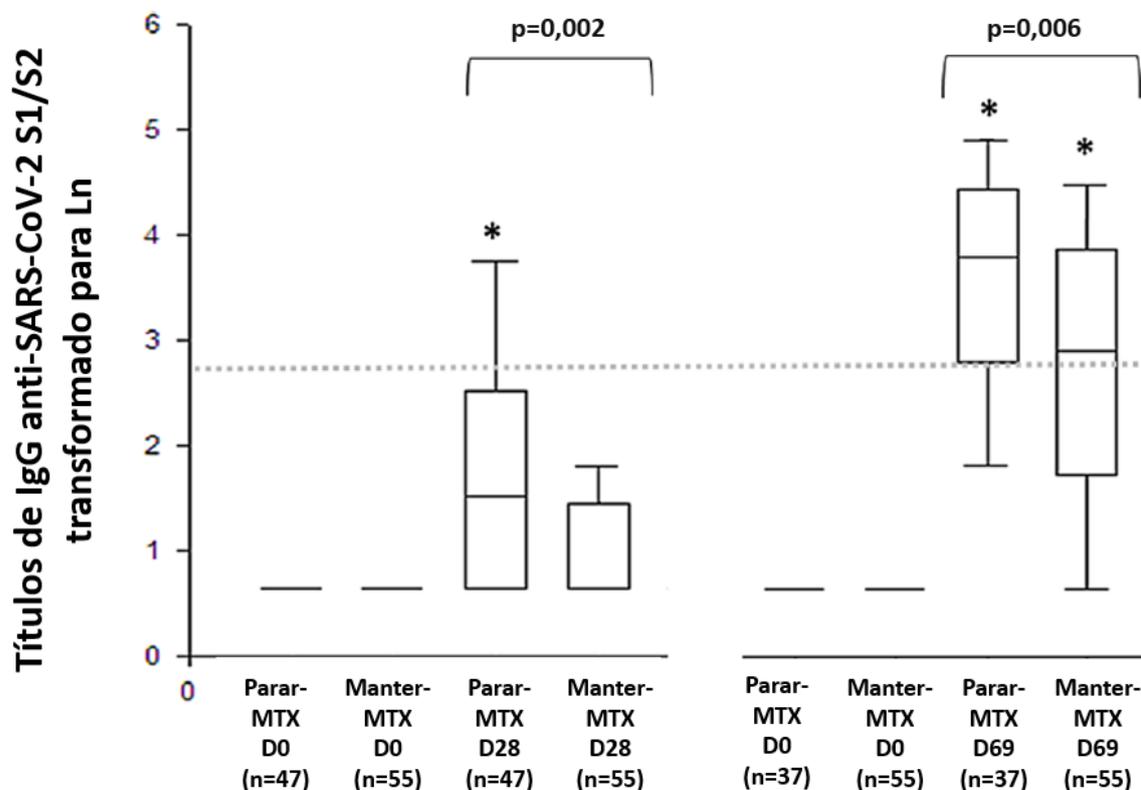
As análises dos desfechos secundários relacionados ao D28 mostraram aumento de SC ($p=0,011$), positividade de AcN ($p=0,027$), MGT ($p=0,002$) e FI-GMT ($p<0,001$) no grupo Parar-MTX (**Tabela 2, Figuras 2 e 3**). Essa análise avalia os grupos após uma dose da vacina e antes da exclusão de pacientes do grupo Parar-MTX por reativação da AR (Parar-MTX, $n=47$; Manter-MTX, $n=55$).

Figura 2 – Frequência de IgG anti-SARS-CoV-2 e anticorpos neutralizantes nos D28 e D69 nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX.



Frequência de soroconversão e anticorpos neutralizantes de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 nos D28 e D69 nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX, comparados utilizando análise bicaudal com testes de qui-quadrado ou Fisher, conforme apropriado. Dados apresentados em porcentagem. Parar-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a interromper o MTX após a primeira ($n=47$) e segunda dose da vacina ($n=37$: devido à exclusão de pacientes que tiveram CDAI >10 no D28 e somente suspenderam o MTX uma vez). Manter-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a manter o uso de MTX durante o estudo ($n=55$). * $p<0,05$ na comparação dos dois grupos. O número de pacientes em cada grupo consta abaixo dos seus nomes no D28 e D69. CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; D28 – dia 28; D69 – dia 69; MTX – metotrexato.

Figura 3 – Diagrama de caixa de títulos de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 pré-vacinação (D0) e após a primeira (D28) e segunda dose da vacina (D69) de acordo com os grupos Parar-MTX e Manter-MTX.



Parar-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a interromper o MTX após a primeira (n=47) e segunda dose da vacina (n=37: devido à exclusão de pacientes que tiveram CDAI >10 no D28 e somente suspenderam o MTX uma vez). Manter-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a manter o uso de MTX durante o estudo (n=55). Análises foram realizadas com dados transformados para logaritmo neperiano (Ln) usando equações de estimativa generalizada com distribuição marginal normal e distribuição gama, respectivamente, e função-identidade assumindo matriz de correlação autorregressiva de primeira ordem entre os momentos na comparação dos dois grupos, seguido por múltiplas comparações de Bonferroni. O comportamento médio dos títulos de IgG transformados para Ln foi diferente nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX (p da interação = 0,003 do D0 para o D28 e <0,001 do D0 para o D69). Os títulos eram comparáveis entre os grupos no D0 (p>0,999), mas o grupo Parar-MTX apresentou maior média dos títulos no D28 (p=0,002) e no D69 (p=0,006). A média dos títulos aumentaram em cada ponto no tempo para o grupo Parar-MTX (*p<0,001 do D0 para o D28 e do D0 para o D69). Para o grupo Manter-MTX, a média dos títulos não aumentou do D0 para o D28 (p=0,423), mas aumentou do D0 para o D69 (*p<0,001). Todas as análises foram bicaudais. A linha tracejada indica o corte para positividade (Ln 15 UA/mL=2,71 pelo ELISA indireto, LIAISON IgG SARS-CoV-2 S1/S2). CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; D0 – dia 0; D28 – dia 28; D69 – dia 69; UA – unidade arbitrária; MTX – metotrexato.

3.2 Fatores associados à imunogenicidade

A análise da combinação dos dois grupos mostra que ter completado o protocolo de interrupção do MTX correlacionou positivamente com a taxa de SC no D69, enquanto idade mais elevada, idade ≥ 60 anos e uso de leflunomida tiveram associação negativa. Idade mais elevada e idade ≥ 60 anos também se associaram negativamente com presença de AcN no D69 (**Tabela 3**). Na análise multivariada considerando como variável dependente a SC, apenas o protocolo completo de interrupção de MTX (RC 4,6 [1,43-15,04], $p=0,010$) permaneceu positivamente associado à SC, enquanto idade mais elevada permaneceu negativamente associada à SC (RC 0,71 [0,56-0,89] para cada intervalo de 5 anos, $p=0,003$). No modelo que coloca a idade ≥ 60 anos ao invés da idade como variável contínua, ter idade ≥ 60 anos permaneceu negativamente associada à SC (RC 0,16 [0,05-0,50], $p=0,001$), assim como o protocolo completo de interrupção de MTX permaneceu positivamente associado à SC na mesma magnitude que no modelo anterior.

Tabela 3 – Fatores associados à positividade de IgG (soroconversão) ou de AcN após 2 doses da vacina CoronaVac (n=92)

| | IgG positivo após 2 doses (n=59) | IgG negativo após 2 doses (n=33) | <i>p</i> | AcN positivo após 2 doses (n=50) | AcN negativo após 2 doses (n=42) | <i>p</i> |
|--|--|--|----------|--|--|----------|
| Características demográficas | | | | | | |
| Idade atual, anos | 55 (42,5-64,5) | 66 (59-69) | 0,001 | 52,5 (40,5-67) | 62,5 (55,3-69) | 0,006 |
| Idade >60 anos | 20 (33,9) | 24 (72,7) | <0,001 | 18 (36) | 26 (61,9) | 0,013 |
| Sexo feminino | 53 (89,8) | 31 (93,9) | 0,707 | 47 (94,0) | 37 (88,1) | 0,462 |
| Cor branca | 29 (49,2) | 15 (45,5) | 0,733 | 23 (46,0) | 21 (50) | 0,702 |
| Atividade de doença ao início do estudo | | | | | | |
| CDAI | 5,0 (3,0-8,0) | 6,0 (4,0-8,0) | 0,469 | 6,0 (3,0-8,0) | 6,0 (3,0-8,0) | 0,829 |
| SDAI | 6,1 (3,1-9,1) | 7,1 (4,1-9,3) | 0,339 | 6,1 (3,2-9,4) | 7,0 (3,8-9,2) | 0,763 |
| DAS28-PCR | 2,43(1,82-3,05) | 2,27(2,11-2,90) | 0,843 | 2,45 (1,83-3,10) | 2,33 (1,98-2,97) | 0,742 |
| PCR, mg/dL | 3,3 (1,0-9,2) | 8,9 (7,3-9,8) | 0,154 | 1,6 (0,9-9,2) | 7,6 (3,8-9,8) | 0,161 |
| Nº art. c/ dor | 1 (0-2) | 0 (0-1) | 0,086 | 1 (0-2) | 0 (0-1) | 0,259 |
| Nº art. c/ edema | 0 (0-1) | 1 (0-1) | 0,297 | 1 (0-1) | 1 (0-1) | 0,727 |
| AVG-Pac | 3 (1-4) | 3 (2-4) | 0,491 | 3 (1-4) | 3 (1-4) | 0,570 |
| AVG-Med | 1 (1-2) | 1 (1-2) | 0,223 | 1 (1-2) | 1 (1-2) | 0,766 |
| Terapia medicamentosa | | | | | | |
| Prednisona | 25 (42,4) | 12 (36,4) | 0,573 | 18 (38) | 19 (45,2) | 0,368 |
| Dose, mg/dia | 5 (2,5-5) | 5 (5-5) | 0,406 | 5 (2,5-5) | 5 (5-5) | 0,278 |
| Interrompeu | 29 (49,2) | 8 (24,2) | 0,019 | 23 (46) | 14 (33,3) | 0,217 |
| MTX duas vezes | | | | | | |
| Monoterapia com MTX | 20 (33,9) | 5 (15,2) | 0,053 | 15 (30) | 10 (23,8) | 0,506 |
| Leflunomida | 8 (13,6) | 11 (33,3) | 0,024 | 7 (14) | 12 (28,6) | 0,086 |
| Sulfassalazina | 1 (1,7) | 0 | >0,999 | 0 | 1 (2,4) | 0,457 |
| HCQ | 11 (18,6) | 6 (18,2) | 0,956 | 12 (24) | 5 (11,9) | 0,137 |
| Tofacitinibe | 4 (6,8) | 0 | 0,293 | 3 (6) | 1 (2,4) | 0,623 |
| Inibidores de TNF | 11 (18,6) | 7 (21,2) | 0,766 | 12 (24) | 6 (14,3) | 0,242 |
| Abatacepte | 6 (10,2) | 7 (21,2) | 0,145 | 4 (8) | 9 (21,4) | 0,066 |
| Tocilizumabe | 1 (1,7) | 1 (3,0) | >0,999 | 1 (2) | 1 (2,4) | >0,999 |

Resultados são expressos em mediana (intervalo interquartil) e n (%). Variáveis contínuas foram comparadas usando o teste de Mann-Whitney ou T de Student, e variáveis categóricas usando o qui-quadrado ou teste de Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*; DAS28-PCR – *Disease Activity Score com 28 articulações e proteína C-reativa*; PCR – proteína C-reativa; Art. – articulações; AVG-Pac – avaliação visual global pelo paciente; AVG-Med – avaliação visual global pelo médico; MTX – metotrexato; HCQ – hidroxicloroquina; TNF – fator de necrose tumoral.

3.2.1 Subanálises de imunogenicidade de acordo com a idade

Foram realizadas análises de sensibilidade de acordo com idade, sendo os pacientes divididos em <60 e ≥60 anos, e avaliados quanto às taxas de soroconversão e FI-MGT no D69 (**Tabela 4**).

Tabela 4 – Análise de imunogenicidade em pacientes <60 e ≥60 anos no D69

| | | Parar-MTX (n=37) | Manter-MTX (n=55) | p |
|----------|-----------|------------------|-------------------|-------|
| <60 anos | SC, n (%) | 16/19 (84,2) | 22/28 (78,6) | 0,720 |
| | FI-MGT | 23,6 (16,9-32,9) | 13,3 (9,6-18,4) | 0,071 |
| ≥60 anos | SC, n (%) | 13/18 (72,2) | 8/27 (29,6) | 0,005 |
| | FI-MGT | 15,3 (8,0-29,3) | 4,9 (3,0-8,1) | 0,005 |

Frequência de soroconversão (SC - positividade de IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2) e fator de incremento das médias geométricas dos títulos (FI-GMT) no D69 nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX. As frequências de SC são apresentadas em porcentagem e os FI-MGT são apresentados com média geométrica com 95% de intervalo de confiança (95% IC). As frequências de SC foram comparadas utilizando análises bicaudais dos testes de qui-quadrado ou Fisher, conforme apropriado, em pacientes com <60 e ≥60 anos. Pacientes com sorologia positiva ou anticorpos neutralizantes positivos no início do estudo foram excluídos. As análises dos FI-MGT foram realizadas com dados transformados para logaritmo neperiano (Ln) utilizando equações de estimativa generalizada. MTX – metotrexato. Parar-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a interromper o MTX após a primeira e segunda dose da vacina (n=37). Manter-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a manter o uso de MTX durante o estudo (n=55).

3.3 Desfechos de segurança

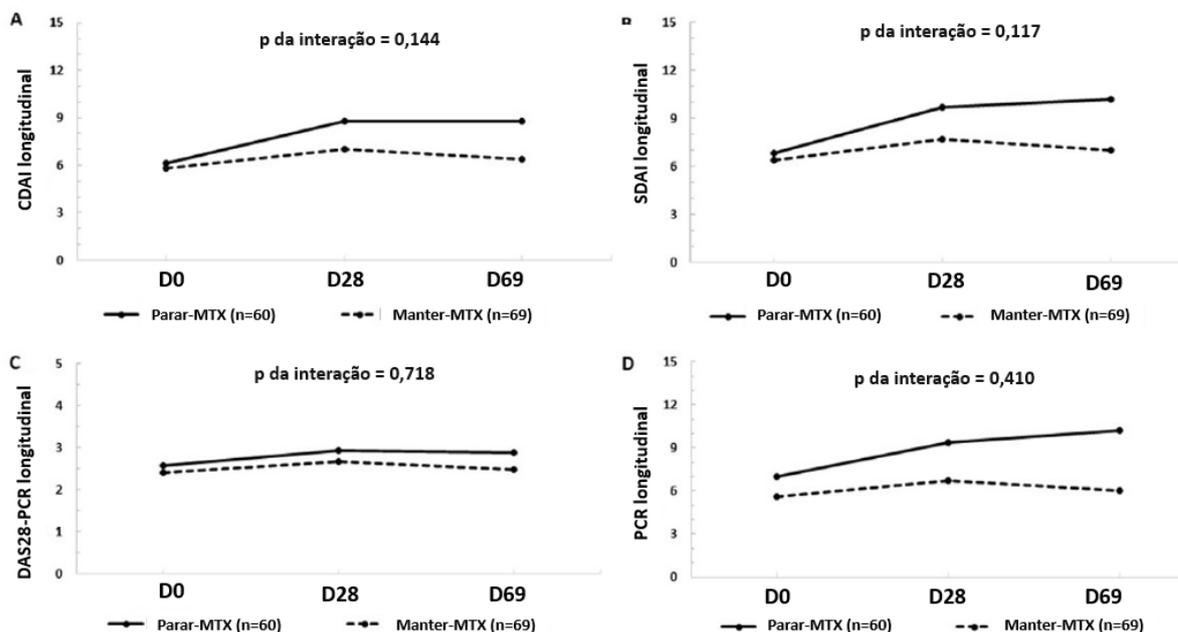
Para essas avaliações, os grupos consistiram em 60 (Parar-MTX) e 69 (Manter-MTX) pacientes, incluindo aqueles com IgG anti-SARS-CoV-2 IgG ou AcN positivos no D0.

3.3.1 Atividade de doença

Na análise longitudinal dos escores de atividade de doença, CDAI (p=0,144), SDAI (p=0,117), DAS28-PCR (p=0,718) e PCR (p=0,410) apresentaram o mesmo comportamento em ambos os grupos, com piora entre o D0 e o D28 (p<0,001 para CDAI, SDAI e DAS28-PCR; p=0,027 para PCR), mas estáveis entre o D28 e o D69 (p>0,999 para CDAI, SDAI e PCR; p=0,602 para DAS28-PCR) (**Figura 4**).

No D28, não houve diferença entre os grupos, mesmo levando em consideração diferentes definições de reativação da AR ($p > 0,05$) (**Tabela 5**). No D69, os grupos apresentavam taxas de reativação comparáveis levando em consideração o critério de variação do DAS28-PCR ($p = 0,188$). No entanto, o grupo Parar-MTX apresentou mais reativações utilizando a definição de CDAI > 10 ($p = 0,011$) e mais pacientes deste grupo reportaram percepção de piora da atividade de doença ($p = 0,044$). Levando em consideração reativação em qualquer momento do estudo, o mesmo padrão foi observado: sem diferenças entre os grupos com o critério de variação do DAS28-PCR ($p = 0,094$) e uma maior taxa de reativação no grupo Parar-MTX pelo critério CDAI > 10 ($p = 0,024$) e percepção de piora pelo paciente ($p = 0,022$). A magnitude de variação do CDAI entre os pacientes que tiveram reativação foi comparável entre os grupos (9 [4,0-13,5] vs. 7 [4,8-10,8], $p = 0,456$).

Figura 4 – Análise longitudinal das métricas de atividade de doença no início do estudo e após a primeira e segunda dose da vacina nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX.



Parar-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a interromper o MTX após a primeira e segunda dose da vacina (n=60). Manter-MTX: pacientes soronegativos no D0 randomizados a manter o uso de MTX durante o estudo (n=69). Os parâmetros de atividade de doença são demonstrados como médias, e as análises foram feitas usando equações de estimativa generalizada com distribuição marginal normal e distribuição gama, respectivamente, e função-identidade assumindo matriz de correlação autorregressiva de primeira ordem entre os momentos (D0, D28 e D69) na comparação dos dois grupos (Parar-MTX e Manter-MTX), seguido por múltiplas comparações de Bonferroni. O comportamento médio do CDAI (A), SDAI (B), DAS-28-PCR (C) e PCR (D) foi similar nos grupos Parar-MTX e Manter-MTX ao longo do estudo ($p=0,144$, $p=0,117$, $p=0,718$ e $p=0,410$, respectivamente), aumentando após a primeira dose da vacina ($p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$ e $p=0,021$, respectivamente) e se mantendo estável após a segunda dose ($p>0,999$, $p>0,999$, $p=0,602$ e $p>0,999$, respectivamente). CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; D0 – dia 0; D28 – dia 28; D69 – dia 69; DAS28-PCR – *Disease Activity Score com 28 articulações e proteína C-reativa*; PCR – proteína C-reativa; MTX – metotrexato; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*

Tabela 5 – Análise de atividade de doença após a primeira e segunda dose da vacina Sinovac CoronaVac em pacientes com artrite reumatoide

| | | Após primeira dose (D28) | Após segunda dose (D69) | A qualquer momento |
|--|------------|--------------------------|-------------------------|--------------------|
| Δ DAS28-PCR $\geq 1,2$ ou Δ DAS28-PCR $\geq 0,6$ + DAS28-PCR $> 3,2$ | Parar-MTX | 7 (11,7) | 12 (20,0) | 22 (36,7) |
| | Manter-MTX | 6 (8,7) | 8 (11,6) | 16 (23,2) |
| | p | 0,576 | 0,188 | 0,094 |
| CDAI > 10 | Parar-MTX | 13 (21,7) | 19 (31,7) | 23 (38,3) |
| | Manter-MTX | 8 (11,6) | 9 (13,0) | 14 (20,3) |
| | p | 0,122 | 0,011 | 0,024 |
| Impressão de reativação da AR pelo paciente | Parar-MTX | 6 (10,0) | 8 (13,3) | 14 (23,3) |
| | Manter-MTX | 5 (7,2) | 2 (2,3) | 6 (8,7) |
| | p | 0,577 | 0,044 | 0,022 |
| Δ CDAI $\geq 4,5$ | Parar-MTX | 17 (28,3) | 16 (26,7) | 24 (40,0) |
| | Manter-MTX | 12 (17,4) | 13 (18,8) | 19 (27,5) |
| | p | 0,148 | 0,288 | 0,134 |
| Δ SDAI $\geq 4,7$ | Parar-MTX | 17 (28,3) | 18 (30,0) | 24 (40,0) |
| | Manter-MTX | 12 (17,4) | 14 (20,3) | 19 (27,5) |
| | p | 0,148 | 0,203 | 0,134 |

Para análise de segurança, todos os pacientes que aderiram ao protocolo foram incluídos. Resultados são expressos em n (%) e comparados com os testes de qui-quadrado ou Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. MTX – metotrexato; Δ DAS28-PCR – variação do DAS28-PCR; DAS28-PCR – *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa; AR – artrite reumatoide; Δ CDAI – variação do *Clinical Disease Activity Index*; Δ SDAI – variação do *Simplified Disease Activity Index*.

3.3.2 Subanálise de atividade de doença pelos critérios de variação de CDAI e SDAI

Foi realizado uma análise de reativação da AR de acordo com critérios descritos por Konzett e colegas³⁹. Foi visto aumento $\geq 4,5$ no CDAI entre o D0 e o D69 em 29 (22,5%) dos pacientes, sendo 16 (26,7%) no grupo Parar-MTX e 13 (18,8%) no grupo Manter-MTX ($p=0,288$), e o aumento $\geq 4,7$ no SDAI foi visto em 32 (24,8%) dos pacientes, com 18 (30%) no grupo Parar-MTX e 14 (20,3%) no grupo Manter-MTX ($p=0,203$). Quando levado em consideração também o D28, foi observada a mesma taxa tanto no aumento $\geq 4,5$ no CDAI e $\geq 4,7$ no SDAI: 43 (33,3%) dos pacientes, sendo 17 (28,3%) no grupo Parar-MTX e 12 (17,4%) no grupo Manter-MTX ($p=0,148$) (**Tabela 5**).

3.3.3 Preditores de reativação da artrite reumatoide

Os preditores de reativação de acordo com a definição de CDAI >10 no D69 foram sexo feminino ($p=0,027$), maior atividade de doença no D0 ($p<0,05$ para CDAI, SDAI, DAS28-PCR e avaliação global do paciente), parar temporariamente o MTX ($p=0,011$), reativação no D28 ($p<0,001$), doses mais altas de MTX ($p=0,025$) e uso de prednisona ($p=0,016$). Após a realização regressões logísticas multivariadas manteve-se a associação com reativação a maior atividade de doença no D0 e parar temporariamente o MTX (**Tabela 6**).

Tabela 6 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério CDAI >10 no D69

| | Reativação no D69 (n=28) | Sem reativação no D69 (n=101) | <i>p</i> |
|---|-----------------------------|----------------------------------|----------|
| Aspectos demográficos | | | |
| Idade, anos | 59,0 (51,0-67,3) | 61,0 (51,0-69,0) | 0,824 |
| Idade >60 anos | 13 (46,4) | 52 (51,5) | 0,636 |
| Sexo feminino | 27 (96,4) | 87 (86,1) | 0,027 |
| Cor branca | 12 (42,9) | 45 (44,6) | 0,873 |
| Parâmetros da doença | | | |
| Duração da doença | 17 (10,8-26,5) | 18 (11,0-26,0) | 0,918 |
| Positividade de FR | 22 (78,6) | 79/100* (79,0) | 0,961 |
| Positividade de Anti-CCP | 13/17* (76,5) | 49/67* (73,1) | >0,999 |
| CDAI | 8 (6-10) | 6 (3-8) | 0,003 |
| CDAI ≤2,8 | 1 (3,6) | 20 (19,8) | 0,044 |
| PCR | 3,5 (0,9-8,0) | 4,0 (1,6-8,9) | 0,380 |
| SDAI | 8,8 (6,6-10,2) | 6,2 (3,4-9,3) | 0,008 |
| SDAI ≤3,3 | 2 (7,1) | 24 (23,8) | 0,063 |
| DAS28-PCR | 2,84 (2,40-3,12) | 2,40 (1,87-2,98) | 0,028 |
| DAS28-PCR <2,6 | 10 (35,7) | 66 (65,3) | 0,005 |
| Reativação no D28 (pelo critério CDAI>10) | 12 (42,9) | 9 (8,9) | <0,001 |
| Reativação no D28 (pelo critério de percepção de piora do paciente) | 5 (17,9) | 6 (5,9) | 0,046 |
| Nº art. c/ dor | 1 (0-2) | 0 (0-2) | 0,071 |
| Nº art. c/ edema | 1 (0-2) | 1 (0-1) | 0,857 |
| AVG-Pac | 4 (3-5) | 3 (1-4) | 0,002 |
| AVG-Med | 2 (1-2) | 1 (1-2) | 0,279 |
| Terapia medicamentosa | | | |
| Retirou MTX por 2 semanas após as duas doses da CoronaVac | 19 (67,9) | 41 (40,6) | 0,011 |
| Prednisona | 18 (64,3) | 39 (38,6) | 0,016 |
| Prednisona, dose | 5 (5-5) | 5 (5-5) | 0,803 |
| MTX dose | 22,5 (20,0-25,0) | 20 (15,0-25,0) | 0,025 |

| | | | |
|-----------------------|-----------|-----------|-------|
| MTX 10-15 mg/semana | 4 (14,3) | 35 (34,7) | 0,039 |
| MTX 17,5-25 mg/semana | 24 (85,7) | 66 (65,3) | |
| MTX em monoterapia | 6 (21,4) | 25 (24,8) | 0,716 |
| MTX em combinação | 22 (78,6) | 76 (75,2) | |

Resultados são expressos em mediana (intervalo interquartil) e n (%). Variáveis contínuas foram comparadas usando o teste de Mann-Whitney ou T de Student, e variáveis categóricas usando o qui-quadrado ou teste de Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. FR – fator reumatoide; CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*; DAS28-PCR – *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa; PCR – proteína C-reativa; Art. – articulações; AVG-Pac – avaliação visual global pelo paciente; AVG-Med – avaliação visual global pelo médico; MTX – metotrexato; MMCD – medicamento modificador do curso da doença.

Foram realizadas análises multivariadas por regressão logística utilizando como variável dependente a reativação por CDAI >10 no D69, e como variáveis independentes aquelas que tiveram $p < 0,2$ na análise univariada: sexo, atividade de doença no D0 (CDAI), interrupção temporária do MTX, dose do MTX, uso de prednisona e CDAI >10 no D28. Permaneceram associadas à perda da condição de CDAI ≤ 10 no D69: sexo feminino (RC 11,71 [IC95% 1,10-124,55], $p=0,041$), CDAI >10 no D28 (RC 8,01 [IC 95% 2,15-30,49], $p=0,002$) e interrupção temporária do MTX (RC 3,39 [IC95% 1,19-9,69], $p=0,023$). Como o CDAI no D0 pode ter interferido na chance de perda de baixa atividade pelo CDAI no D28, fizemos uma análise adicional sem incluir a piora no D28 entre as variáveis independentes. Nessa análise, a interrupção temporária do MTX permaneceu associada à perda da condição de CDAI ≤ 10 no D69 (RC 3,18 [IC95% 1,21-8,34], $p=0,019$) e o maior CDAI basal também aumentou o risco de ativação da doença por esse critério (RC 1,22 para cada ponto de CDAI no D0 [IC95% 1,03-1,43], $p=0,020$).

Adicionalmente, fizemos uma análise dos fatores de piora no D28 (**Tabela 7**) e apenas as métricas mais altas no D0 foram associadas com maior chance de piora no D28 (RC 1,51 para cada ponto de CDAI no D0 [IC95% 1,20-1,90], $p < 0,001$).

Tabela 7 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério CDAI >10 no D28

| | Reativação no D69 (n=21) | Sem reativação no D69 (n=108) | <i>p</i> |
|---|-----------------------------|----------------------------------|----------|
| Aspectos demográficos | | | |
| Idade, anos | 59,0 (52,0-65,0) | 61,0 (50,5-69,0) | 0,735 |
| Idade >60 anos | 10 (47,6) | 56 (51,9) | 0,723 |
| Sexo feminino | 16 (76,2) | 98 (90,7) | 0,057 |
| Cor branca | 11 (52,4) | 46 (42,6) | 0,409 |
| Parâmetros da doença | | | |
| Duração da doença | 15,0 (10,0-24,0) | 19,0 (11,0-28,0) | 0,270 |
| Positividade de FR | 16 (76,2) | 85/107 (79,4) | 0,739 |
| Positividade de Anti-CCP | 9/14 (64,3) | 53/70 (75,7) | 0,375 |
| CDAI | 10,0 (6,0-10,0) | 6,0 (3,0-8,0) | <0,001 |
| CDAI ≤2,8 | 0 | 21 (19,4) | 0,024 |
| PCR | 3,6 (1,6-8,1) | 4,0 (1,3-8,9) | 0,992 |
| SDAI | 10,1 (6,7-10,4) | 6,2 (3,4-9,3) | <0,001 |
| SDAI ≤3,3 | 0 | 26 (24,1) | 0,007 |
| DAS28-PCR | 3,00 (2,79-3,16) | 2.38 (1,94-2,88) | <0,001 |
| DAS28-PCR <2,6 | 4 (19,0) | 72 (66,7) | <0,001 |
| Nº art. c/ dor | 1,0 (1,0-2,0) | 0 (0-2,0) | 0,012 |
| Nº art. c/ edema | 1,0 (0,0-2,0) | 1,0 (0-1,0) | 0,071 |
| AVG-Pac | 4,0 (4,0-5,0) | 3,0 (1,0-4,0) | <0,001 |
| AVG-Med | 2,0 (1,0-2,0) | 1,0 (1,0-2,0) | 0,126 |
| Terapia medicamentosa | | | |
| Retirou MTX por 2 semanas após as duas doses da CoronaVac | 13 (61,9) | 47 (43,5) | 0,122 |
| Prednisona | 13 (61,9) | 44 (40,7) | 0,074 |
| Prednisona, dose | 5,0 (5,0-5,0) | 5,0 (4,4-5,0) | 0,412 |
| MTX dose | 20,0 (20,0-25,0) | 20,0 (15,0-25,0) | 0,188 |
| MTX 10-15 mg/semana | 3 (14,3) | 36 (33,3) | 0,118 |
| MTX 17,5-25 mg/semana | 18 (85,7) | 72 (66,7) | |
| MTX em monoterapia | 6 (28,6) | 32 (33,3) | 0,923 |

| | | |
|-------------------|-----------|-----------|
| MTX em combinação | 15 (71,4) | 76 (70,4) |
|-------------------|-----------|-----------|

Resultados são expressos em mediana (intervalo interquartil) e n (%). Variáveis contínuas foram comparadas usando o teste de Mann-Whitney ou T de Student, e variáveis categóricas usando o qui-quadrado ou teste de Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. FR – fator reumatoide; CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*; DAS28-PCR – *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa; PCR – proteína C-reativa; Art. – articulações; AVG-Pac – avaliação visual global pelo paciente; AVG-Med – avaliação visual global pelo médico; MTX – metotrexato; MMCD – medicamento modificador do curso da doença.

A avaliação pelo critério de variação do DAS28-PCR mostrou que reativação no D28 e maior dose de MTX correlacionaram com mais reativação no D69 (**Tabela 8**). No entanto, em análise multivariada por regressão logística incluindo como variáveis independentes aquelas com $p < 0,2$ na análise univariada, nenhum critério permaneceu significativo ($p > 0,05$).

Tabela 8 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério Δ DAS28-PCR $\geq 1,2$ ou Δ DAS28-PCR $\geq 0,6$ + DAS28-PCR $> 3,2$ no D69

| | Reativação no D69 (n=20) | Sem reativação no D69 (n=109) | <i>p</i> |
|---|-----------------------------|----------------------------------|----------|
| Aspectos demográficos | | | |
| Idade, anos | 56 (43,3-63,5) | 61 (52,0-69,0) | 0,149 |
| Idade >60 anos | 7 (35,0) | 59 (54,1) | 0,116 |
| Sexo feminino | 19 (95,0) | 95 (87,2) | 0,464 |
| Cor branca | 8 (40,0) | 49 (45,0) | 0,682 |
| Parâmetros da doença | | | |
| Duração da doença | 12,5 (8,8-19,0) | 18,0 (10,0-27,0) | 0,102 |
| Positividade de FR | 18 (90,0) | 82/108 (75,9) | 0,242 |
| Positividade de Anti-CCP | 12/13 (92,3) | 50/71 (70,4) | 0,168 |
| CDAI | 6,0 (3,0-9,3) | 6,0 (4,0-9,0) | 0,622 |
| CDAI $\leq 2,8$ | 3 (15,0) | 18 (16,5) | >0,999 |
| PCR | 3,3 (0,9-7,3) | 4,0 (1,5-8,9) | 0,456 |
| SDAI | 6,1 (3,6-10,1) | 7,1 (4,1-9,5) | 0,653 |
| SDAI $\leq 3,3$ | 4 (20,0) | 22 (20,2) | >0,999 |
| DAS28-PCR | 2,24 (2,03-2,96) | 2,50 (1,96-3,03) | 0,645 |
| DAS28-PCR $< 2,6$ | 13 (65,0) | 64 (58,7) | 0,598 |
| Reativação no D28 (por CDAI > 10) | 6 (30,0) | 15 (13,8) | 0,071 |
| Reativação no D28 (por critério Δ DAS28-PCR) | 5 (25,0) | 7 (6,4) | 0,009 |
| Reativação no D28 (pelo critério de percepção de piora do paciente) | 1 (5,0) | 10 (9,2) | >0,999 |
| Nº art. c/ dor | 1,0 (0,0-2,0) | 1,0 (0,0-2,0) | 0,785 |
| Nº art. c/ edema | 1,0 (0,0-2,0) | 1,0 (0,0-1,0) | 0,863 |
| AVG-Pac | 3,0 (1,8-4,0) | 3,0 (1,0-4,0) | 0,410 |
| AVG-Med | 1,0 (0,8-2,0) | 1,0 (1,0-2,0) | 0,930 |
| Terapia medicamentosa | | | |
| Retirou MTX por 2 semanas após as duas doses da CoronaVac | 11 (55,0) | 48 (44,0) | 0,366 |
| Prednisona | 11 (55,0) | 46 (42,2) | 0,289 |

| | | | |
|-----------------------|------------------|------------------|-------|
| Prednisona, dose | 5,0 (5,0-5,0) | 5,0 (5,0-5,0) | 0,516 |
| MTX dose | 25,0 (20,0-25,0) | 20,0 (15,0-25,0) | 0,028 |
| MTX 10-15 mg/semana | 3 (15,0) | 36 (33,0) | 0,121 |
| MTX 17,5-25 mg/semana | 17 (85,0) | 73 (67,0) | |
| MTX em monoterapia | 5 (25,0) | 33 (30,3) | 0,634 |
| MTX em combinação | 15 (75,0) | 76 (69,7) | |

Resultados são expressos em mediana (intervalo interquartil) e n (%). Variáveis contínuas foram comparadas usando o teste de Mann-Whitney ou T de Student, e variáveis categóricas usando o qui-quadrado ou teste de Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. FR – fator reumatoide; CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*; DAS28-PCR – *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa; PCR – proteína C-reativa; Art. – articulações; AVG-Pac – avaliação visual global pelo paciente; AVG-Med – avaliação visual global pelo médico; MTX – metotrexato; MMCD – medicamento modificador do curso da doença.

A análise univariada dos preditores de reativação pelo critério $\Delta\text{CDAI} \geq 4,5$ mostrou que somente a reativação no D28 (pelos critérios CDAI >10 e $\Delta\text{CDAI} \geq 4,5$) foi correlacionada com maior risco de reativação no D69 (**Tabela 9**), enquanto que na análise pelo critério $\Delta\text{SDAI} \geq 4,7$, a idade >60 anos e reativação no D28 (pelos critérios CDAI >10 e $\Delta\text{SDAI} \geq 4,7$) foram correlacionados (**Tabela 10**). Na análise multivariada para reativação por $\Delta\text{CDAI} \geq 4,5$, considerando como variável dependente a reativação no D69 por este critério, e incluindo como variáveis independentes aquelas com $p < 0,2$ na análise univariada, observou-se que a reativação no D28 (RC 10,0 [3,51-28,67], $p < 0,001$) e sexo feminino (RC 9,7 [1,04-90,35], $p < 0,046$) foram positivamente associados à reativação. O mesmo foi feito para o critério $\Delta\text{SDAI} \geq 4,7$: por esse critério, a reativação no D28 manteve-se positivamente associada à reativação (RC 8,60 [3,31-22,35], $p < 0,001$), enquanto a idade >60 se manteve negativamente associada à reativação (RC 0,38 [0,15-0,98], $p = 0,044$).

Tabela 9 – Análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério Δ CDAI $\geq 4,5$ no D69

| | Reativação no D69 (n=29) | Sem reativação no D69 (n=100) | <i>p</i> |
|---|-----------------------------|----------------------------------|----------|
| Aspectos demográficos | | | |
| Idade, anos | 56 (44,0-65,0) | 61 (52,0-69,3) | 0,157 |
| Idade >60 anos | 10 (34,5) | 55 (55,0) | 0,052 |
| Sexo feminino | 28 (96,6) | 86 (86,0) | 0,188 |
| Cor branca | 12 (41,4) | 45 (45,0) | 0,730 |
| Parâmetros da doença | | | |
| Duração da doença | 17,0 (13,0-28,0) | 21,0 (13,0-30,0) | 0,431 |
| Positividade de FR | 24 (82,8) | 77/99 (77,8) | 0,563 |
| Positividade de Anti-CCP | 16/21 (76,2) | 46/63 (73,0) | 0,775 |
| CDAI | 5,0 (3,0-9,0) | 6,0 (4,0-9,0) | 0,274 |
| CDAI $\leq 2,8$ | 7 (24,1) | 14 (14,0) | 0,193 |
| PCR | 3,9 (1,0-7,9) | 3,8 (1,5-8,9) | 0,832 |
| SDAI | 6,1 (3,1-10,0) | 7,1 (4,4-9,5) | 0,241 |
| SDAI $\leq 3,3$ | 8 (27,6) | 16 (16,0) | 0,158 |
| DAS28-PCR | 2,31 (1,94-2,96) | 2,50 (1,97-3,07) | 0,072 |
| DAS28-PCR <2,6 | 18 (62,1) | 58 (58,0) | 0,695 |
| Reativação no D28 (por CDAI >10) | 10 (34,4) | 11 (11,0) | 0,003 |
| Reativação no D28 (por Δ CDAI $\geq 4,5$) | 15 (51,7) | 14 (14,0) | <0,001 |
| Reativação no D28 (pelo critério de percepção de piora do paciente) | 3 (10,3) | 8 (8,0) | 0,691 |
| Nº art. c/ dor | 1,0 (0,0-2,0) | 1,0 (0,0-2,0) | 0,687 |
| Nº art. c/ edema | 0,0 (0,0-1,0) | 1,0 (0,0-1,0) | 0,222 |
| AVG-Pac | 3,0 (1,0-4,0) | 3,0 (1,0-4,0) | 0,250 |
| AVG-Med | 1,0 (0,0-2,0) | 1,0 (1,0-2,0) | 0,180 |
| Terapia medicamentosa | | | |
| Retirou MTX por 2 semanas após as duas doses da CoronaVac | 16 (55,2) | 44 (44,0) | 0,288 |
| Prednisona | 15 (51,7) | 42 (42,0) | 0,353 |
| Prednisona, dose | 5,0 (5,0-5,0) | 5,0 (5,0-5,0) | 0,636 |
| MTX dose | 20 (17,5-25,0) | 20,0 (15,0-25,0) | 0,300 |

| | | | |
|-----------------------|-----------|-----------|-------|
| MTX 10-15 mg/semana | 7 (24,1) | 32 (32,0) | 0,417 |
| MTX 17,5-25 mg/semana | 22 (75,9) | 68 (68,0) | |
| MTX em monoterapia | 4 (13,8) | 25 (25,0) | 0,312 |
| MTX em combinação | 25 (86,2) | 75 (75,0) | |

Resultados são expressos em mediana (intervalo interquartil) e n (%). Variáveis contínuas foram comparadas usando o teste de Mann-Whitney ou T de Student, e variáveis categóricas usando o qui-quadrado ou teste de Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. FR – fator reumatoide; CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*; DAS28-PCR – *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa; PCR – proteína C-reativa; Art. – articulações; AVG-Pac – avaliação visual global pelo paciente; AVG-Med – avaliação visual global pelo médico; MTX – metotrexato; MMCD – medicamento modificador do curso da doença.

Tabela 10 – análise de preditores de reativação da artrite reumatoide pelo critério Δ SDAI $\geq 4,7$ no D69

| | Reativação no D69 (n=31) | Sem reativação no D69 (n=98) | <i>p</i> |
|---|-----------------------------|---------------------------------|----------|
| Aspectos demográficos | | | |
| Idade, anos | 54,0 (44,0-64,5) | 61,5 (52,0-69,8) | 0,068 |
| Idade >60 anos | 10 (32,3) | 55 (56,1) | 0,021 |
| Sexo feminino | 29 (93,5) | 85 (86,7) | 0,520 |
| Cor branca | 13 (41,9) | 44 (44,9) | 0,471 |
| Parâmetros da doença | | | |
| Duração da doença | 17,0 (12,5-28,0) | 21,0 (13,0-30,0) | 0,287 |
| Positividade de FR | 26 (83,9) | 75/97 (77,3) | 0,436 |
| Positividade de Anti-CCP | 18/23 (78,3) | 44/61 (72,1) | 0,569 |
| CDAI | 6,0 (3,0-9,5) | 6,0 (4,0-9,0) | 0,424 |
| CDAI $\leq 2,8$ | 7 (22,6) | 14 (14,3) | 0,276 |
| PCR | 3,9 (1,1-8,4) | 3,8 (1,5-8,9) | 0,989 |
| SDAI | 6,2 (3,3-10,1) | 7,1 (4,3-9,5) | 0,404 |
| SDAI $\leq 3,3$ | 8 (25,8) | 16 (16,3) | 0,237 |
| DAS28-PCR | 2,31 (1,94-2,97) | 2,50 (1,99-3,06) | 0,687 |
| DAS28-PCR <2,6 | 19 (61,3) | 57 (58,2) | 0,758 |
| Reativação no D28 (por CDAI >10) | 12 (38,7) | 9 (9,2) | <0,001 |
| Reativação no D28 (por Δ SDAI >4,7) | 17 (54,8) | 12 (12,2) | <0,001 |
| Reativação no D28 (pelo critério de percepção de piora do paciente) | 3 (9,7) | 8 (8,2) | 0,793 |
| Nº art. c/ dor | 1,0 (0,0-2,0) | 1,0 (0,0-2,0) | 0,665 |
| Nº art. c/ edema | 0,0 (0,0-1,5) | 1,0 (0,0-1,0) | 0,598 |
| AVG-Pac | 3,0 (0,5-4,0) | 3,0 (1,0-4,0) | 0,205 |
| AVG-Med | 1,0 (0,5-2,0) | 1,0 (1,0-2,0) | 0,271 |
| Terapia medicamentosa | | | |
| Retirou MTX por 2 semanas após as duas doses da CoronaVac | 17 (54,8) | 43 (43,9) | 0,286 |
| Prednisona | 16 (51,6) | 41 (41,8) | 0,339 |
| Prednisona, dose | 5,0 (5,0-5,0) | 5,0 (5,0-5,0) | 0,574 |
| MTX dose | 20,0 (16,25-25,0) | 20,0 (15,0-25,0) | 0,430 |

| | | | |
|-----------------------|-----------|-----------|-------|
| MTX 10-15 mg/semana | 8 (25,8) | 31 (31,6) | 0,538 |
| MTX 17,5-25 mg/semana | 23 (74,2) | 67 (68,4) | |
| MTX em monoterapia | 6 (19,4) | 22 (22,4) | 0,716 |
| MTX em combinação | 25 (80,6) | 76 (77,6) | |

Resultados são expressos em mediana (intervalo interquartil) e n (%). Variáveis contínuas foram comparadas usando o teste de Mann-Whitney ou T de Student, e variáveis categóricas usando o qui-quadrado ou teste de Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. FR – fator reumatoide; CDAI – *Clinical Disease Activity Index*; SDAI – *Simplified Disease Activity Index*; DAS28-PCR – *Disease Activity Score* com 28 articulações e proteína C-reativa; PCR – proteína C-reativa; Art. – articulações; AVG-Pac – avaliação visual global pelo paciente; AVG-Med – avaliação visual global pelo médico; MTX – metotrexato; MMCD – medicamento modificador do curso da doença.

3.3.4 Avaliação de desfechos após o estudo

A revisão de prontuários mostrou que 54/60 (90%) dos pacientes no grupo Parar-MTX e 65/69 (94,2%) no grupo Manter-MTX tiveram visitas subsequentes nos 2-6 meses após o D69 (mediana de 147 dias no grupo Parar-MTX e 146 dias no Manter-MTX). Nesse período, 3 (5,5%) pacientes tiveram troca de medicação imunossupressora devido à atividade persistente da AR no grupo Parar-MTX vs. 1 (1,4%) no grupo Manter-MTX ($p=0,328$).

3.3.5 Eventos adversos da vacina

Aproximadamente metade dos pacientes reportaram eventos adversos leves, sem diferenças entre os grupos. Após a segunda dose da vacina, mialgia (10 [16,7%] vs. 3 [4,3%], $p=0,037$) e vertigem (7 [11,7%] vs. 1 [1,5%], $p=0,024$) foram mais frequentes no grupo Parar-MTX (**Tabela 11**).

Tabela 11: Eventos adversos após primeira e segunda dose da vacina Sinovac-Coronavac

| | Após primeira dose da vacina | | | Após segunda dose da vacina | | |
|---------------------|------------------------------|--------------------------|----------|-----------------------------|--------------------------|----------|
| | Parar-MTX (n=60) | Manter- MTX (n=69) | <i>p</i> | Parar-MTX (n=60) | Manter- MTX (n=69) | <i>p</i> |
| Nenhum sintoma | 29 (48,3) | 29 (42) | 0,473 | 31 (51,7) | 36 (52,2) | 0,954 |
| Sintomas locais | 13 (21,6) | 13 (18,8) | 0,690 | 7 (11,6) | 7 (10,1) | 0,582 |
| Dor | 9 (15) | 11 (15,9) | 0,883 | 5 (8,3) | 6 (8,7) | 0,941 |
| Eritema | 1 (1,7) | 1 (1,5) | >0,999 | 1 (1,7) | 1 (1,5) | >0,999 |
| Edema | 3 (5) | 4 (5,8) | >0,999 | 2 (3,3) | 2 (2,9) | >0,999 |
| Equimose | 4 (6,7) | 1 (1,5) | 0,183 | 2 (3,3) | 0 | 0,210 |
| Prurido | 3 (5) | 1 (1,5) | 0,337 | 0 | 2 (2,9) | 0,499 |
| Induração | 3 (5) | 2 (2,9) | 0,663 | 0 | 2 (2,9) | 0,499 |
| Sintomas sistêmicos | 27 (45) | 26 (37,7) | 0,399 | 19 (31,6) | 19 (27,5) | 0,608 |
| Febre | 0 | 2 (2,9) | 0,499 | 2 (3,3) | 3 (4,3) | >0,999 |
| Mal-estar | 3 (5) | 5 (7,3) | 0,723 | 6 (10) | 4 (5,8) | 0,513 |
| Sonolência | 5 (8,3) | 9 (13) | 0,391 | 4 (6,7) | 3 (4,3) | 0,704 |
| Falta de apetite | 1 (1,7) | 3 (4,4) | 0,625 | 3 (5) | 4 (5,8) | >0,999 |
| Náusea | 2 (3,3) | 4 (5,8) | 0,685 | 4 (6,7) | 3 (4,3) | 0,704 |
| Vômitos | 1 (1,7) | 2 (2,9) | >0,999 | 1 (1,7) | 0 | 0,465 |
| Diarreia | 3 (5) | 3 (4,4) | >0,999 | 4 (6,7) | 1 (1,5) | 0,183 |
| Dor abdominal | 2(3,3) | 4 (5,8) | 0,685 | 4 (6,7) | 1 (1,5) | 0,183 |
| Vertigem | 4 (6,7) | 6 (8,7) | 0,750 | 7 (11,7) | 1 (1,5) | 0,024 |
| Tremor | 3 (5) | 2 (2,9) | >0,999 | 5 (8,3) | 1 (1,5) | 0,096 |
| Cefaleia | 10 (16,7) | 11 (15,9) | 0,657 | 12 (20) | 8 (11,6) | 0,188 |
| Fadiga | 6 (10) | 4 (5,8) | >0,999 | 7 (11,7) | 5 (7,3) | 0,389 |
| Sudorese | 3 (5) | 2 (2,9) | 0,663 | 4 (6,7) | 1 (1,5) | 0,183 |
| Mialgia | 5 (8,3) | 4 (5,8) | 0,733 | 10 (16,7) | 3 (4,3) | 0,037 |
| Fraqueza muscular | 2 (3,3) | 5 (7,3) | 0,448 | 8 (13,3) | 3 (4,3) | 0,112 |
| Artralgia | 11 (17) | 7 (10,1) | 0,181 | 9 (15) | 5 (7,3) | 0,158 |
| Dor lombar | 6 (18,3) | 7 (10,1) | 0,978 | 9 (15) | 4 (5,8) | 0,141 |
| Tosse | 4 (6,7) | 4 (5,8) | >0,999 | 5 (8,3) | 3 (4,3) | 0,471 |
| Espirros | 6 (10) | 10 (14,5) | 0,440 | 4 (6,7) | 6 (8,7) | 0,750 |
| Coriza | 3 (5) | 6 (8,7) | 0,502 | 3 (5) | 6 (8,7) | 0,502 |
| Constipação nasal | 3 (5) | 2 (2,9) | >0,999 | 4 (6,7) | 4 (5,8) | >0,999 |
| Dor de garganta | 2 (3,3) | 6 (8,7) | 0,283 | 3 (5) | 5 (7,3) | 0,723 |
| Dispneia | 2 (3,3) | 1 (1,5) | 0,597 | 3 (5) | 0 | 0,094 |
| Conjuntivite | 0 | 2 (2,9) | 0,499 | 2 (3,3) | 0 | 0,214 |
| Prurido | 0 | 0 | >0,999 | 1 (1,7) | 0 | 0,465 |
| <i>Rash</i> cutâneo | 1 (2,1) | 2 (3,6) | >0,999 | 0 | 4 (3,6) | 0,123 |

Para análise de segurança, todos os pacientes que aderiram ao protocolo foram incluídos. Resultados são expressos em n (%) e comparados com os testes de qui-quadrado ou Fisher, conforme apropriado, em análises bicaudais. MTX – metotrexato.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo foi o primeiro ensaio clínico randomizado a avaliar o impacto da interrupção temporária do MTX na imunogenicidade e na atividade de doença em pacientes com AR recebendo vacinação para COVID-19. Os resultados mostram que o protocolo de interrupção de MTX é eficaz para aumentar a soroconversão e os níveis de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2. A variação na atividade de doença foi comparável entre os grupos, porém com mais reativações da AR no grupo Parar-MTX após a segunda dose da vacina dependendo do critério utilizado para a reativação.

O estudo tem alguns pontos fortes. Foram incluídos pacientes com AR em baixa atividade ou remissão, e com baixas doses de prednisona, o que representa um cenário mais seguro para a interrupção temporária do MTX²⁸. Além disso, a randomização, a avaliação cega da atividade de doença e o uso de métricas validadas permitiram uma análise robusta do risco de reativação^{33,34}. Ademais, houve uma distribuição balanceada de características da AR, tratamento e perfil demográfico, fatores esses que poderiam afetar a imunogenicidade vacinal e o risco de reativação^{11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,26}. O tamanho amostral final foi menor do que o esperado devido à alta taxa de recusas a participar no estudo e critérios de exclusão rigorosos. A amostra pequena levou a um estudo com menor poder e é uma importante limitação do estudo, impedindo conclusões definitivas sobre os achados. No entanto, o efeito positivo do protocolo de interrupção de MTX na imunogenicidade humoral foi maior do que o esperado, o que permitiu a identificação de diferenças significativas nas taxas de SC e MGT.

O presente estudo demonstra que a interrupção temporária de MTX após cada dose da vacina CoronaVac aumenta em cerca de 25% a imunogenicidade de anticorpos IgG. Esse aumento é muito próximo àquele de 20% visto no estudo de interrupção de MTX por 2 semanas na vacinação para influenza²¹, e pode ajudar a mitigar os efeitos imunes negativos do MTX na vacinação pela CoronaVac¹³. O benefício na imunogenicidade do protocolo foi visto mesmo com alta frequência de uso combinado com outros MMCDs e prednisona, fatores esses que podem independentemente reduzir a resposta imune vacinal^{13,19}. Vale notar que a dose de MTX foi comparável entre os grupos, e que todos os pacientes receberam doses

acima de 10 mg/semana. Isso corrobora a observação de que doses de MTX acima de 7,5 mg/semana se beneficiam do protocolo de interrupção no estudo com a vacina de influenza²¹.

Não foi visto diferença significativa no desfecho coprimário de positividade de anticorpos neutralizantes no D69, embora uma tendência para maior AcN foi aparente no grupo Parar-MTX. Isso pode ter ocorrido em razão da plataforma vacinal utilizada neste estudo ter sido a CoronaVac, vacina inativada adjuvantada, com capacidade inferior de geração de anticorpos neutralizantes em comparação às vacinas de mRNA e de vetor viral⁴⁴. Estudos posteriores que utilizaram essas duas últimas plataformas vacinais demonstraram maior positividade de anticorpos neutralizantes em pacientes que suspenderam temporariamente o MTX^{45,46}.

Acerca da terapia combinada, a distribuição de drogas foi similar em ambos os grupos, equalizando o potencial efeito negativo adicional de outros MMCDs. O presente estudo excluiu pacientes em uso de rituximabe devido ao seu efeito bem documentado de redução da resposta humoral e a heterogeneidade do seu efeito dependendo do tempo da última aplicação^{12,13,14,15,16,17,18}. A análise multivariada revelou que a terapia combinada com outro MMCD ou com prednisona não afetou o benefício da interrupção temporária do MTX.

Pacientes idosos têm imunogenicidade vacinal reduzida, possivelmente pelo fenômeno da imunosenescência⁴⁷. Assim, uma intervenção que aumenta a imunogenicidade pode ser estratégica nessa população. Neste contexto, a subanálise nos pacientes entre <60 e ≥60 anos mostrou que pacientes com ≥60 anos se beneficiam mais da estratégia de interrupção temporária do MTX no D69, enquanto não foi visto diferença na SC em pacientes <60 anos, entre os grupos Parar-MTX e Manter-MTX. Esse impacto do protocolo de suspensão do MTX mais evidente em pacientes idosos foi também descrito em um estudo com outras plataformas vacinais, predominantemente as vacinas de mRNA⁴⁵. Entretanto, ambos estudos tiveram populações pequenas, o que pode comprometer a conclusão de que a estratégia não impacta na imunogenicidade de pacientes mais jovens. Um estudo publicado em 2022⁴⁸ mostrou benefício da estratégia de interrupção temporária do MTX em populações com média de idade de 48-53 anos vacinados com a ChAdOx1 nCov-19 (vacina de vetor viral), enquanto em um estudo que avaliou dose adicional (3ª dose) com múltiplas plataformas vacinais, a estratégia de interrupção temporária do MTX

aumentou os títulos de anticorpos em indivíduos com mais de 40 anos⁴⁶, e que se mantiveram mais elevados em comparação a quem não suspendeu o MTX mesmo após 6 meses de seguimento⁴⁹. Nesse contexto, tanto níveis mais altos de anticorpos como soropositividade foram associados a menores taxas infecção por COVID-19 pós-vacina em uma população de imunossuprimidos reumatológicos⁵⁰. Assim, apesar da população de idosos poder ter um benefício mais evidente da estratégia, ela também pode beneficiar pacientes mais jovens.

A segurança relacionada à vacinação e ao protocolo de interrupção temporária do MTX foi cautelosamente avaliada e incluiu diversas métricas validadas e amplamente utilizadas para AR^{33,37}. Na avaliação longitudinal, CDAI, SDAI, DAS28-PCR e PCR tiveram comportamentos comparáveis entre os dois grupos, aumentando após a primeira dose da vacina e mantendo-se estáveis após a segunda. Esse comportamento longitudinal similar das métricas entre os grupos pode ter sido influenciado pela estratégia de segurança de não retirar o MTX após a segunda dose em pacientes que já apresentavam reativação após a primeira dose no grupo Parar-MTX. Essa medida de segurança, entretanto, limita a validação externa do estudo, visto que, em situações de vida real, rotineiramente não se avalia a atividade de doença entre as doses vacinais, sem possibilidade de interferir na retirada com conhecimento da atividade de doença nesse momento específico. Além disso, a piora da atividade da doença pelo critério de percepção do paciente não foi preditora de piora ao final do estudo por nenhuma das métricas. O aumento visto nas métricas após a vacinação, mesmo no grupo Manter-MTX, está de acordo com a taxa de reativação por SDAI visto após a vacinação com BNT162b2¹², que ficou em torno de 20% em pacientes com AR. É preciso notar que o tempo entre as duas doses da vacina foi curto, com apenas duas semanas de intervalo entre os dois períodos de retirada, o que pode ter acarretado em maior risco de reativação. Além disso, a retirada do MTX após uma única dose da vacina não se associou à piora da atividade de doença antes da 2ª dose, mas o pequeno número de pacientes provavelmente limitou essa análise.

Considerando ainda as taxas de reativação, não houve diferença entre os grupos quando analisada pelo critério de variação do DAS28-PCR. O critério similar que utiliza a velocidade de hemossedimentação (DAS28-VHS) foi usado nos estudos de interrupção de MTX na vacinação para influenza^{20,21} e teve performance melhor

que outras definições de reativação de acordo com o OMERACT³⁷. Também não se notou diferença entre os grupos usando a definição mais recente de reativação da AR (Δ CDAI $\geq 4,5$; Δ SDAI $\geq 4,7$), publicada e validada após o presente estudo³⁹. No entanto, o critério CDAI >10 mostrou mais reativações no D69 no grupo Parar-MTX em comparação ao grupo Manter-MTX, assim como a percepção dos pacientes de piora clínica. É possível que parte desses achados sejam influenciados por um efeito nocebo, uma vez que os pacientes do grupo Parar-MTX estavam cientes que estavam suspendendo um medicamento que é importante no tratamento da AR. Da mesma forma, o grupo Parar-MTX teve mais mialgia e vertigem após a segunda dose, o que pode ser decorrente do não-cegamento. Além disso, cerca de metade dos pacientes teve eventos adversos leves à vacina, que podem ter sido interpretados como atividade da AR pelo paciente.

Ainda no contexto da reativação, a análise dos preditores de piora da atividade de doença mostrou uniformemente que a reativação da AR no D28 foi associada à piora clínica ao final do estudo. Com base nisso, se o médico identificar piora clinicamente relevante na atividade de doença após a primeira dose vacinal, deve orientar o paciente sobre o risco de nova reativação se suspender temporariamente o MTX na segunda dose vacinal. Em relação aos outros preditores de piora atividade ao fim do estudo, destacou-se o sexo feminino como associado a maior taxa de reativação pelo critério de perda de CDAI ≤ 10 e no Δ CDAI $\geq 4,5$. De fato, o sexo feminino já foi associado a quadros de AR mais dolorosos, exemplificado por maior número de articulações dolorosas e maior AVG do paciente⁵¹, além de também ter sido associado com maior taxa de reativação no desmame de imunobiológicos⁵². Isso pode ocorrer por fatores hormonais, diferenças na farmacocinética/dinâmica em comparação com homens, e maior prevalência de fibromialgia no sexo feminino⁵¹. Já em relação à maior atividade basal, ela foi preditora de piora apenas pelo critério CDAI >10 . Como esse critério considera como piora apenas a ultrapassagem de um limiar, pacientes com atividade já mais próxima desse limite no D0 terão mais chance de ultrapassá-lo. Considerando que a mediana de CDAI no início do estudo era em torno de 6, o risco de piora é mais alto em apenas parte da casuística, evidenciando que a perda da condição de CDAI ≤ 10 é um critério limitado. Já os critérios de Δ DAS28-PCR, Δ CDAI e Δ SDAI consideram que a variação da métrica é o mais importante. Curiosamente, houve menor taxa de reativação usando o critério do DAS28-PCR nos

dois braços do estudo. Isso pode ter acontecido porque esse critério requer uma variação maior de atividade ($>1,2$) para pacientes que estão em baixa atividade, como no presente estudo, em que quase a totalidade dos pacientes estava com DAS28-PCR $<3,2$ ³⁷. Já os critérios novos por Δ CDAI e Δ SDAI³⁹ detectaram mais reativações nos dois grupos, visto que captam variações iguais independentemente do nível prévio de atividade de doença. Nas análises que consideraram a variação de uma métrica, a retirada do MTX não influenciou a taxa de reativação no D69. Em relação ao critério de piora pelo Δ SDAI, a idade também foi associada com menor chance de reativação. Unindo esse fato ao maior benefício da retirada do MTX sobre a imunogenicidade entre idosos, nota-se que pacientes ≥ 60 anos representam o grupo de melhor relação risco/benefício para a estratégia. Por fim, a revisão dos prontuários dos pacientes que tiveram reativação não mostrou diferenças em mudança de conduta imunossupressora nos 6 meses após o estudo, mostrando que as reativações foram autolimitadas.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a interrupção temporária de MTX por 2 semanas após cada dose da vacina CoronaVac aumentou a resposta vacinal, com impacto mais evidente em pacientes com mais de 60 anos. A perda da condição de baixa atividade pelo CDAI e a percepção de piora pelo paciente foram mais frequentes no grupo que parou o MTX e podem ter se devido ao desenho sem placebo e pelo curto intervalo entre as doses da vacina. Entretanto, a piora clínica não foi observada em outras métricas validadas e não levou a mudanças de terapia nos meses subsequentes. Assim, a estratégia de interrupção do MTX foi benéfica do ponto de vista de resposta vacinal, mas requer seleção adequada de pacientes, decisão compartilhada pesando riscos e benefícios, e monitorização da atividade de doença devido ao risco de reativação.

6 REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial da Saúde. WHO COVID-19. who coronavirus (COVID-19) Dashboard with vaccination data, 2021. Disponível em: <https://covid19.who.int>.
2. Martins JP, Siqueira BA, Sansone NM, Marson FA. COVID-19 in Brazil: A Three-Year Update. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2023 Aug 27:116074.
3. Organização Mundial da Saúde. WHO validates Sinovac COVID-19 vaccine for emergency use and issues interim policy recommendations, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-06-2021-who-validates-sinovac-covid-19-vaccine-for-emergency-use-and-issues-interim-policy-recommendations>.
4. Americas Society Council of The Americas: Timeline: tracking Latin America's road to vaccination, 2021. Disponível em: <https://www.as-coa.org/articles/timeline-tracking-latin-americas-road-vaccination>.
5. Jara A, Undurraga EA, Gonzalez C, *et al*. Effectiveness of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in Chile. *N Engl J Med Overseas Ed* 2021;385:875–84.
6. Hochberg M, Gravallese E, Silman A, *et al*. *Rheumatology*. 7. ed. Philadelphia: Elsevier, 2019.
7. Raiker R, DeYoung C, Pakhchanian H, *et al*. Outcomes of COVID-19 in patients with rheumatoid arthritis: a multicenter research network study in the United States. *Semin Arthritis Rheum* 2021;51:1057–66.
8. Strangfeld A, Schafer M, Gianfrancesco MA, *et al*. Factors associated with COVID-19-related death in people with rheumatic diseases: results from the COVID-19 global rheumatology alliance physician-reported registry. *Ann Rheum Dis* 2021;80:930–42.
9. Hasseli R, Mueller-Ladner U, Hoyer BF, *et al*. Older age, comorbidity, glucocorticoid use and disease activity are risk factors for COVID-19 hospitalisation in patients with inflammatory rheumatic and musculoskeletal diseases. *RMD Open* 2021;7:e001464.
10. Gianfrancesco M, Hyrich KL, Al-Adely S, *et al*. Characteristics associated with hospitalisation for COVID-19 in people with rheumatic disease: data from the COVID-19 global rheumatology alliance physician-reported registry. *Ann Rheum Dis* 2020;79:859–66.

11. Chiang TP-Y, Connolly CM, Ruddy JA, *et al.* Antibody response to the Janssen/Johnson & Johnson SARS-CoV-2 vaccine in patients with rheumatic and musculoskeletal diseases. *Ann Rheum Dis* 2021;80:1365–6.
12. Furer V, Eviatar T, Zisman D, *et al.* Lb0003 Immunogenicity and Safety of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in Adult Patients with Autoimmune Inflammatory Rheumatic Diseases and General Population: a Multicenter Study. *Ann Rheum Dis* 2021;80:200–1.
13. Medeiros-Ribeiro AC, Aikawa NE, Saad CGS, *et al.* Immunogenicity and safety of the CoronaVac inactivated vaccine in patients with autoimmune rheumatic diseases: a phase 4 trial. *Nat Med* 2021;27:1–8.
14. Boekel L, Steenhuis M, Hooijberg F, *et al.* Antibody development after COVID-19 vaccination in patients with autoimmune diseases in the Netherlands: a substudy of data from two prospective cohort studies. *Lancet Rheumatol* 2021;3:e778–88.
15. Spiera R, Jinich S, Jannat-Khah D. Rituximab, but not other antirheumatic therapies, is associated with impaired serological response to SARS-CoV-2 vaccination in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2021;80:1357–9.
16. Boyarsky BJ, Ruddy JA, Connolly CM, *et al.* Antibody response to a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine in patients with rheumatic and musculoskeletal diseases. *Ann Rheum Dis* 2021;10.1136/annrheumdis-2021-220289. [Epub ahead of print: 23 Mar 2021].
17. Seyahi E, Bakhdiyarli G, Oztas M, *et al.* Antibody response to inactivated COVID-19 vaccine (CoronaVac) in immune-mediated diseases: a controlled study among hospital workers and elderly. *Rheumatol Int* 2021;41:1429–40.
18. Braun-Moscovici Y, Kaplan M, Braun M, *et al.* Disease activity and humoral response in patients with inflammatory rheumatic diseases after two doses of the Pfizer mRNA vaccine against SARS-CoV-2. *Ann Rheum Dis* 2021;80:1317–21.
19. Bugatti S, De Stefano L, Balduzzi S, *et al.* Methotrexate and glucocorticoids, but not anticytokine therapy, impair the immunogenicity of a single dose of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients with chronic inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis* 2021;80:1635–8.

20. Park JK, Lee MA, Lee EY, *et al.* Effect of methotrexate discontinuation on efficacy of seasonal influenza vaccination in patients with rheumatoid arthritis: a randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis* 2017;76:1559–65.
21. Park JK, Lee YJ, Shin K, *et al.* Impact of temporary methotrexate discontinuation for 2 weeks on immunogenicity of seasonal influenza vaccination in patients with rheumatoid arthritis: a randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis* 2018;77:annrheumdis-2018-213222-904.
22. Haberman RH, Herati R, Simon D, *et al.* Methotrexate hampers immunogenicity to BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in immune-mediated inflammatory disease. *Ann Rheum Dis* 2021;80:1339–44.
23. Medeiros-Ribeiro AC, Bonfiglioli KR, Domiciano DS, *et al.* Distinct impact of DMARD combination and monotherapy in immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2022 May 1;81(5):710-9.
24. Cronstein B, Aune T. Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2020 Mar;16(3):145-54.
25. Kapetanovic MC, Nagel J, Nordström I, *et al.* Methotrexate reduces vaccine-specific immunoglobulin levels but not numbers of circulating antibody-producing B cells in rheumatoid arthritis after vaccination with a conjugate pneumococcal vaccine. *Vaccine*. 2017 Feb 7;35(6):903-8.
26. Winthrop KL, Silverfield J, Racewicz A, *et al.* The effect of tofacitinib on pneumococcal and influenza vaccine responses in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2016;75:687–95.
27. Park JK, Choi Y, Winthrop KL, *et al.* Optimal time between the last methotrexate administration and seasonal influenza vaccination in rheumatoid arthritis: post hoc analysis of a randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis* 2019;78:1283–4.
28. Park JK, Kim MJ, Choi Y, *et al.* Effect of short-term methotrexate discontinuation on rheumatoid arthritis disease activity: post-hoc analysis of two randomized trials. *Clin Rheumatol* 2020;39:375–9.

29. Curtis JR, Johnson SR, Anthony DD, *et al.* American College of rheumatology guidance for COVID-19 vaccination in patients with rheumatic and musculoskeletal diseases: version 3. *Arthritis Rheumatol* 2021;73:e60–75.
30. Arnold J, Winthrop K, Emery P. COVID-19 vaccination and antirheumatic therapy. *Rheumatology* 2021;60:3496–502.
31. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, *et al.* 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010;62:2569–81.
32. Organização Mundial da Saúde. WHO draft guidelines for adverse event reporting and learning systems, 2005. Disponível em: file:///C:/Users/TEMP/Downloads/WHO-EIP-SPO-QPS-05.3-eng.pdf [acessado em 06 de Julho de 2021].
33. Aletaha D, Smolen J. The simplified disease activity index (SDAI) and the clinical disease activity index (CDAI): a review of their usefulness and validity in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2005;23:S100.
34. Wells G, Becker J-C, Teng J, *et al.* Validation of the 28-joint disease activity score (DAS28) and European League against rheumatism response criteria based on C reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis* 2009;68:954–60.
35. Asai S, Takahashi N, Hayashi M, *et al.* Predictors of disease flare after discontinuation of concomitant methotrexate in Japanese patients with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab. *Jt Bone Spine* 2020;87:596–602.
36. Yoshida K, Kishimoto M, Radner H, *et al.* Low rates of biologic-free clinical disease activity index remission maintenance after biologic disease-modifying anti-rheumatic drug discontinuation while in remission in a Japanese multicentre rheumatoid arthritis registry. *Rheumatology* 2016;55:286–90.
37. van der Maas A, Lie E, Christensen R, *et al.* Construct and criterion validity of several proposed DAS28-based rheumatoid arthritis flare criteria: an OMERACT cohort validation study. *Ann Rheum Dis* 2013;72:1800–5.

38. van Herwaarden N, van der Maas A, Minten MJM, *et al.* Disease activity guided dose reduction and withdrawal of adalimumab or etanercept compared with usual care in rheumatoid arthritis: open label, randomised controlled, non-inferiority trial. *BMJ* 2015;350:h1389.
39. Konzett V, Kerschbaumer A, Smolen JS, *et al.* Definition of rheumatoid arthritis flare based on SDAI and CDAI. *Ann Rheum Dis.* 2023 Oct 24.
40. Taylor SC, Hurst B, Charlton CL, *et al.* A new SARS-CoV-2 dual-purpose serology test: highly accurate infection tracing and neutralizing antibody response detection. *J Clin Microbiol* 2021;59:e02438–20.
41. Criscuolo E, Diotti RA, Strollo M, *et al.* Weak correlation between antibody titers and neutralizing activity in sera from SARS-CoV-2 infected subjects. *J Med Virol* 2021;93:2160–7.
42. LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG. Disponível em: https://www.diasorin.com/sites/default/files/allegati/liaison_sars-cov-2_s1_s2_igg_m0870004366_b.pdf.
43. Ribeiro ACM, Guedes LKN, Moraes JCB, *et al.* Reduced seroprotection after pandemic H1N1 influenza adjuvant-free vaccination in patients with rheumatoid arthritis: implications for clinical practice. *Ann Rheum Dis* 2011;70:2144–7.
44. Liu Y, Ye Q. Safety and Efficacy of the Common Vaccines against COVID-19. *Vaccines.* 2022 Mar 25;10(4):513.
45. Silva AN, Frommert LM, Albach FN, *et al.* Pausing methotrexate improves immunogenicity of COVID-19 vaccination in patients with rheumatic diseases. *medRxiv.* 2021 Nov 23:2021-11.
46. Abhishek A, Boyton RJ, Peckham N, *et al.* Effect of a 2-week interruption in methotrexate treatment versus continued treatment on COVID-19 booster vaccine immunity in adults with inflammatory conditions (VROOM study): a randomised, open label, superiority trial. *Lancet Respir Med.* 2022 Sep;10(9):840-850. doi: 10.1016/S2213-2600(22)00186-2.
47. Goronzy JJ, Weyand CM. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nat immunol.* 2013 May;14(5):428-36.

48. Skaria TG, Sreeprakash A, Umesh R, *et al.* Withholding methotrexate after vaccination with ChAdOx1 nCov19 in patients with rheumatoid or psoriatic arthritis in India (MIVAC I and II): results of two, parallel, assessor-masked, randomised controlled trials. *Lancet Rheumatol.* 2022 Nov 1;4(11):e755-64.
49. Abhishek A, Peckham N, Pade C, *et al.* Effect of a 2-week interruption in methotrexate treatment on COVID-19 vaccine response in people with immune-mediated inflammatory diseases (VROOM study): a randomised, open label, superiority trial. *Lancet Rheumatol.* 2024 Feb 1;6(2):e92-104.
50. Furer V, Eviatar T, Freund T, *et al.* Immunogenicity induced by two and three doses of the BNT162b2 mRNA vaccine in patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases and immunocompetent controls: a longitudinal multicentre study. *Ann Rheum Dis* 2022 Nov 1;81(11):1594-602.
51. Maranini B, Bortoluzzi A, Silvagni E, Govoni M. Focus on sex and gender: what we need to know in the management of rheumatoid arthritis. *J Pers Med.* 2022 Mar 20;12(3):499.
52. Terslev L, Ostergaard M, Georgiadis S, *et al.* Flare during tapering of biological DMARDs in patients with rheumatoid arthritis in routine care: characteristics and predictors. *RMD Open.* 2022 Dec;8(2):e002796.

7 ANEXOS

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DA PESQUISA

Título da pesquisa - IMUNOGENICIDADE E SEGURANÇA DA VACINA CORONAVAC EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS AUTOIMUNES E PESSOAS QUE VIVEM COM HIV/AIDS

Pesquisador principal - Dra Eloisa Bonfá

Departamento/Instituto - Disciplina de Reumatologia do HCFMUSP

Convidamos o(a) Sr(a) a participar dessa pesquisa por ter uma doença reumatológica ou vivem com HIV/AIDS ou por ser uma pessoa sem essas doenças e estar em programação de receber a vacina CORONAVAC contra COVID-19. As informações sobre o estudo estão detalhadas neste 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.

Justificativa e objetivos do estudo - A atual pandemia de COVID-19, causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, iniciou-se em dezembro de 2019 em Wuhan, na China, e rapidamente tornou-se uma emergência sanitária global ao levar a uma sobrecarga nos sistemas de saúde em todo o mundo, incluindo o aumento das taxas de internações hospitalares, aumento da demanda por leitos de unidade de terapia intensiva e de mortalidade. Essa infecção levantou uma preocupação particular em pacientes com doenças reumatológicas autoimunes e pessoas que vivem com HIV/AIDS, uma vez que são considerados de mais alto risco para doença grave pelo SARS-CoV-2, quer pela doença ou pelo uso de medicações. Diante desse quadro, este projeto pretende comparar a resposta

desses pacientes à vacina contra COVID-19 com a resposta de indivíduos sem essas doenças para definir se esses pacientes estarão protegidos após a vacina.

Procedimentos que serão realizados e métodos que serão empregados – Para se definir se a resposta à vacina dos pacientes com algumas doenças reumatológicas (lupus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, espondilite anquilosante, dermatomiosite/polimiosite, esclerose sistêmica, vasculites sistêmicas, síndrome de Sjögren primária, síndrome antifosfolípide) e pessoas que vivem com HIV/AIDS será adequada, estamos convidando os pacientes com essas doenças e com idade maior ou igual a 18 anos a participarem do estudo. Também estão convidados a participar adultos com idade maior ou igual a 18 anos e sem doenças reumatológicas ou HIV/AIDS.

Todos os participantes receberão 2 doses da vacina de vírus inativado contra COVID-9 (CORONAVAC), com intervalo de 28 dias.

Serão ainda colhidos exames de sangue de todos os participantes (20 mL – menos que uma xícara de café) em 3 momentos: no dia da 1ª dose, no dia da 2ª dose (28 dias após a 1ª dose) e 28-54 dias após a 2ª dose da vacina. O sangue será colhido com o objetivo de estudar a resposta a essa vacina, isto é, será avaliado se o seu organismo produz quantidade suficiente de anticorpo para garantir proteção, que são substâncias produzidas pelas células de defesa do corpo. A sua participação é voluntária e se o Sr.(a) não desejar participar, ou quiser sair do estudo, não sofrerá nenhum prejuízo. Serão aceitos no estudo apenas aqueles que concordarem em assinar esse documento.

Em um grupo de pacientes com artrite reumatoide que estiverem com a doença bem controlada em uso de metotrexato, iremos interromper temporariamente o uso de metotrexato por 2 semanas após cada dose da vacina para avaliarmos se assim eles poderão responder melhor à vacina. Neste grupo, faremos contato semanal e, em caso de piora da artrite, retornaremos imediatamente com a medicação e manteremos acompanhamento com consultas mais frequentes até melhora do quadro.

Explicitação de possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa – Poderá ocorrer um pouco de dor ou inchaço no local da coleta de sangue. Para evitar essa reação, será recomendada compressão imediata do local e evitar carregar peso. Riscos de reações de maior gravidade da vacina são raros mas a pessoa pode apresentar transitoriamente sintomas de dor e/ou endurecimento no local, vermelhidão, coceira, febre, calafrios, dor de cabeça, dores no corpo e nas juntas e diarreia. Para minimizar o desconforto,

o participante poderá usar compressas locais, hidratação adequada e analgésicos comuns como paracetamol e dipirona. Em caso de emergência relacionada a reações à vacina ou se apresentar sintomas suspeitos de COVID-19, entre imediatamente em contato com o pesquisador (tel: 26616105 ou 26618023/26618024, email projetcovid.hc@gmail.com) para orientação e avaliação de necessidade de coletar PCR por swab nasal feito de rotina em casos suspeitos de COVID-19. Procure um hospital perto de sua residência e peça para entrar em contato imediatamente com o plantão controlador que funciona 24 horas por dia (tel: 26616570) para transferência e atendimento gratuito no Hospital das Clínicas FMUSP pelo tempo que for necessário.

Você deverá preencher um diário de sintomas após cada dose da vacina até a 3ª coleta de sangue. Este diário é importante para que possamos avaliar todos os possíveis sintomas relacionados com a vacina e caso necessário, será feito atendimento e acompanhamento gratuito do seu quadro pelo tempo que for necessário.

Benefícios esperados para o participante – O principal benefício é reduzir o risco de adquirir COVID-19 e suas complicações e também o acompanhamento médico das possíveis complicações da vacina. O participante saberá ainda se a vacinação foi efetiva, isto é, se sua proteção foi suficiente e que estará protegido da infecção. Não existem benefícios financeiros nem para o Sr.(a), nem aos pesquisadores. O Sr.(a) será informado de todos resultados de exames.

Esclarecimento sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa – 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 um diário de manifestações que será preenchido por você e avaliado pela equipe médica 28 dias após a 1ª dose e 28-54 dias após a 2ª dose da vacina. Caso necessário você passará por consulta com o médico de plantão da equipe do protocolo. O diário contém orientações para contato em caso de manifestações graves. A sua participação no protocolo inclui a autorização de coleta de dados de 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 3 momentos: no dia da 1ª dose, no dia da 2ª dose (28 dias após a 1ª dose) e 28-54 dias após a 2ª dose da vacina. O sangue será colhido somente para se estudar a resposta a essa vacina em pacientes com doenças reumatológicas e pacientes que vivem com HIV/AIDS (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. O soro obtido na coleta de seu sangue será guardado em freezer -70°C para testar posteriormente a produção de anticorpos contra a COVID. Caso haja interesse em uma nova pesquisa com este material, ela terá que ser aprovada pelo comitê de ética em pesquisa do hospital e, se for o caso, pela Comissão nacional de ética em pesquisa – CONEP e você será contatado novamente para autorizar um novo uso e assinar um novo termo de consentimento livre e esclarecido.

Se você optar por retirar o consentimento de guarda das amostras de sangue armazenadas, isso deverá ser realizado por escrito e assinado, podendo ocorrer em qualquer momento, sem que haja qualquer prejuízo a você ou perda de seus direitos de seguimento e tratamento no hospital, com validade a partir da data da comunicação da sua decisão.

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 suspeito de COVID-19 após a vacinação para serem avaliados, de forma clínica e laboratorial.

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 decidir não participar do estudo, ou sair dele, essa decisão não terá nenhuma influência sobre seus futuros cuidados médicos. Os participantes têm direito a indenização por danos eventuais decorrentes da pesquisa.

Esta 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 esta pesquisa.

Garantia de que o participante receberá uma via do termo de consentimento – Se o Sr(a) decidir participar, deve assinar este consentimento informado (última folha) e rubricar (fazer uma pequena assinatura) em todas as outras folhas. Uma via original será fornecida ao Sr(a) e a outra será guardada pelo pesquisador. Os participantes têm 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.

Explicitação das garantias de ressarcimento por despesas decorrentes da pesquisa e explicitação da garantia de indenização por eventuais danos decorrentes da pesquisa

- O estudo será gratuito. A vacinação faz parte do calendário deste ano para toda a população, salvo contraindicações formais. Quando necessário o seu deslocamento em função do estudo, será garantido seu ressarcimento e de seu acompanhante. Os participantes têm direito a indenização por danos decorrentes da pesquisa.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é a Profa Dra Eloisa Bonfá, que pode ser encontrada no endereço Faculdade de Medicina da USP - Av. Dr. Arnaldo, N^o 455 – 3^o andar, sala 3150. Cerqueira César, São Paulo/SP. CEP: 01246-903. Telefone(s): (11) 2661-6105, (11) 2661-8023, (11) 2661-8024 (Ambulatório do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP), 2661-6570), e-mail para contato 24 horas com os pesquisadores: projetcovid.hc@gmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5^o andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549, das 7 às 16h de segunda a sexta feira ou por e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br e a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), Coordenadora interina: Dr. Gyselle Saddi Tannous Secretária-Executiva: Eliane Aparecida da Cruz, Ministério da Saúde - Esplanada dos Ministérios, Edifício Anexo Bl. G Ala B Sl. 13-B, Cep: 70.058-900 Brasília – DF. Telefone: (61) 3315-2951, Telefax: (61) 3226-6453, e-mail: conep@saude.gov.br. Horário de funcionamento: 2^a a 6^a feira, das 8h as 18h.

Fui suficientemente informado a respeito do estudo **“IMUNOGENICIDADE E SEGURANÇA DA VACINA CORONAVAC EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS AUTOIMUNES E PESSOAS QUE VIVEM COM HIV/AIDS”**.

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Profa Dra Eloisa Bonfá) ou pessoa (s) por ele delegada (s) (Dra Ana Cristina de Medeiros Ribeiro, Dra Emily Figueiredo Neves Yuki e Dra Nádia Emi Aikawa) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via original rubricada pelo pesquisador.

----- Data ____/____/____

Assinatura do participante /representante legal

Nome do participante/representante legal

----- Data ____/____/____

Assinatura do responsável pelo estudo

ANEXO B - Aprovação Ética

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMUNOGENICIDADE E SEGURANÇA DA VACINA CORONAVAC EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS AUTOIMUNES E PESSOAS QUE VIVEM COM HIV/AIDS

Pesquisador: ELOISA SILVA DUTRA DE OLIVEIRA BONFA

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 4

CAAE: 42566621.0.0000.0068

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.525.315

ANEXO C - Diagrama de orientação para o grupo Parar-MTX

TEMPO DE SUSPENSÃO DO METOTREXATO

Nome:



MTX - metotrexato

ANEXO D - Diário de sintomas pós-vacinais

| | |
|---|--|
| Peso: | Altura: |
| Vc está isolado pela quarentena? (Fica em casa) | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Com quantas pessoas vc mora? | |
| Você ou alguém que mora com você usou transporte público para trabalhar durante a quarentena? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Alguém que mora com vc teve gripe ou suspeita de COVID desde mar/20? | <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> suspeita <input type="checkbox"/> testou positivo <input type="checkbox"/> testou negativo |
| Quem? | |
| Data de início dos sintomas | |
| Alguém que mora com vc foi internado por COVID durante a quarentena? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Alguém que mora com vc faleceu por COVID durante a quarentena? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Vc teve gripe ou suspeita de COVID desde mar/20? | <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> suspeita <input type="checkbox"/> testou positivo <input type="checkbox"/> testou negativo |
| Se confirmado, qual teste? | <input type="checkbox"/> PCR <input type="checkbox"/> Teste rápido <input type="checkbox"/> Sorologia |
| Data de início dos sintomas | / / |
| Sintomas | |
| Teve trombose? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Local da trombose | |
| Internou? | <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Enfermaria <input type="checkbox"/> UTI não intubado <input type="checkbox"/> UTI intubado |
| Piorou da doença reumatológica? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Recebeu hidroclicloroquina? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Recebeu Azitromicina? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Recebeu ivermectina? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Recebeu nitazoxanida? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Recebeu corticoide? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Voce teve zoster ("cobreiro") durante a quarentena? | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |

PROTOCOLO VACINA COVID-19

Doenças reumatológicas autoimunes e pessoas que vivem com HIV/AIDS

| QUEIXAS | / / | / / | / / | / / | / / |
|-------------------------------------|--|--|--|--|--|
| Inchaco 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 |
| Sonolencia | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Perda de apetite | <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 <input type="checkbox"/> Não |
| Dor na barriga | <input type="checkbox"/> Sim <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 |
| Cansaco | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Sudorese | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Fraqueza muscular | <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 |
| Dor nas costas | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Tosse | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Espirros | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Coriza | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |

| | <input type="checkbox"/> Não |
|--|---|---|---|---|---|
| Nariz entupido | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Dor de garganta | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Falta de ar | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Conjuntivite | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Vermelhidão no corpo | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não |
| Coeira 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 |

OUTRAS QUEIXAS:

| | Data | Procedimento | Comparecimento |
|--------|------|---------------------------|----------------|
| Dia 0 | / / | Coleta + Vacina (1ª dose) | |
| Dia 28 | / / | Coleta + Vacina (2ª dose) | |
| Dia 56 | / / | Coleta | |

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 E - Folha de avaliação do Clinical Disease Activity Index (CDAI)

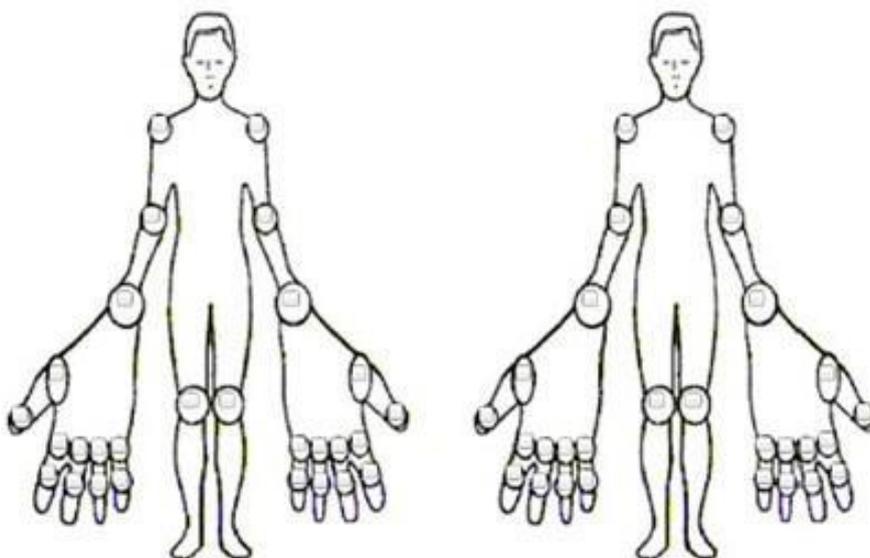
Paciente

Data

Visita () 1ª dose () 2ª dose () última coleta

Articulações dolorosas

Articulações edemaciadas



VAS global paciente: _____ cm



VAS global médico: _____ cm



CDAI

ANEXO F – Publicações associadas ao projeto da tese

Parte do conteúdo dessa tese foi publicado ainda durante o doutorado com o título:

1. **Araujo CSR**, Medeiros-Ribeiro AC, Saad CGS, Bonfiglioli KR, Domiciano DS, Shimabuco AY, Silva MSR, Yuki EFN, Pasoto SG, Pedrosa T, Kupa LVK, Zou G, Pereira RMR, Silva CA, Aikawa NE, Bonfa E. Two-week methotrexate discontinuation in patients with rheumatoid arthritis vaccinated with inactivated SARS-CoV-2 vaccine: a randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis.* 2022;81(6):889-897. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221916.

Outras publicações associadas durante o doutorado:

1. De Medeiros-Ribeiro AC, **Araujo CSR**, Bonfa E. Withholding methotrexate after COVID-19 vaccination: different strategies, same results? *Lancet Rheumatol.* 2022;4(12):e817. doi: 10.1016/S2665-9913(22)00336-8.
2. Silva CA, Medeiros-Ribeiro AC, Kupa LVK, Yuki EFN, Pasoto SG, Saad CGS, Fusco SRG, Pereira RMR, Shinjo SK, Halpern ASR, Borba EF, Souza FHC, Guedes LKN, Miossi R, Bonfiglioli KR, Domiciano DS, Shimabuco AY, Andrade DCO, Seguro LPC, Fuller R, Sampaio-Barros PD, Assad APL, Moraes JCB, Goldenstein-Schainberg C, Giardini HAM, Silva HC, Martins VAO, Villamarin LEB, Novellino RS, Sales LP, **Araújo CSR**, Silva MSR, Filho DMN, Lopes MH, Duarte AJS, Kallas EG, Aikawa NE, Bonfa E. Immunogenicity decay and case incidence six months post Sinovac-CoronaVac vaccine in autoimmune rheumatic diseases patients. *Nat Commun.* 2022;13(1):5801. doi: 10.1038/s41467-022-33042-0.
3. Medeiros-Ribeiro AC, Bonfiglioli KR, Domiciano DS, Shimabuco AY, da Silva HC, Saad CGS, Yuki EFN, Pasoto SG, **Araujo CSR**, Nakai TL, Silva CA, Pedrosa T, Kupa LVK, Silva MSR, Balbi GGM, Kallas EG, Aikawa NE, Bonfa E. Distinct impact of DMARD combination and monotherapy in immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in rheumatoid

arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2022 ;81(5):710-719. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221735.

4. G S Saad C, S R Silva M, Sampaio-Barros PD, C B Moraes J, G Schainberg C, Gonçalves CR, Shimabuco AY, Aikawa NE, F N Yuki E, G Pasoto S, V K Kupa L, K Aoyama R, S R **Araujo C**, Silva CA, Medeiros-Ribeiro AC, Bonfa E. Interaction of TNFi and conventional synthetic DMARD in SARS-CoV-2 vaccine response in axial spondyloarthritis and psoriatic arthritis. *Joint Bone Spine.* 2023;90(1):105464. doi: 10.1016/j.jbspin.2022.105464.