



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Rodrigo Poubel Vieira de Rezende

**Avaliação da imunogenicidade da vacina anti-pneumocócica polissacarídica
23-valente em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico sob
imunossupressão terapêutica**

Rio de Janeiro

2015

Rodrigo Poubel Vieira de Rezende

Avaliação da imunogenicidade da vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico sob imunossupressão terapêutica

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Mendes Klumb

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

R467 Rezende, Rodrigo Pobel Vieira de.

Avaliação da imunogenicidade da vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico sob imunossupressão terapêutica / Rodrigo Pobel Vieira de Rezende – 2015

66 f.

Orientador: Evandro Mendes Klumb.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Lúpus eritematoso sistêmico - Teses. 2. Imunossupressão - Teses. 3. Vacinas pneumocócicas. I. Klumb, Evandro Mendes. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.5-002.5

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Rodrigo Poubel Vieira de Rezende

**Avaliação da imunogenicidade da vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente
em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico sob imunossupressão terapêutica**

Dissertação apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre, ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 30 de novembro de 2015.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Mendes Klumb
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora: _____

Prof. Dr. Geraldo da Rocha Castelar Pinheiro
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Paulo Vieira Damasco
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. José Marcos Telles da Cunha
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação à minha esposa Andrea pelo apoio incondicional à realização do mestrado, incluindo os momentos mais tensos após a chegada do nosso querido Henrique, e aos meus pais, pelo excelente ambiente familiar, incentivo ao estudo e oportunidades que me proporcionaram ao longo da vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Dr. Evandro Mendes Klumb, por ter me acolhido tão bem numa casa onde nunca antes estudei, fazendo-me sentir totalmente à vontade e motivado para realizar o presente trabalho, além de mostrar-me que, na saúde pública, existem pessoas sérias, competentes e dedicadas à profissão, fazendo valer muito cada minuto desta minha experiência.

Aos demais médicos do serviço de reumatologia do HUPE, em especial Dr. Elisa e Dra. Francinne, por também terem me recebido muito bem neste serviço, me ensinarem bastante e contribuírem para a conclusão do trabalho.

Aos residentes de reumatologia que estiveram comigo ao longo do mestrado, sempre dispostos a colaborar mesmo nos dias mais caóticos do ambulatório de lúpus.

Aos pacientes que confiaram em minhas palavras e aceitaram participar deste estudo de vacinação, tema este ainda um tabu para muitos médicos que lidam com doença reumática autoimune e também para os próprios pacientes.

A educação é a arma mais poderosa que você pode usar
para mudar o mundo.

Nelson Mandela

RESUMO

REZENDE, Rodrigo Poubel Vieira de. *Avaliação da imunogenicidade da vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico sob imunossupressão terapêutica*. 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

Face à maior morbimortalidade por pneumonia pneumocócica entre os pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) quando comparado com a população geral, diversos governos e organizações profissionais têm incentivado a vacinação anti-pneumocócica entre os pacientes com LES a fim de combater este cenário adverso. No entanto, poucos estudos em adultos com LES avaliaram a resposta imunológica à vacinação anti-pneumocócica, principalmente entre aqueles sob imunossupressão terapêutica. Este estudo, portanto, teve como proposta avaliar a resposta imune humoral à vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente (VPP23) em pacientes com LES sob imunossupressão terapêutica (grupo IS) e sem imunossupressão terapêutica (grupo não-IS). Neste sentido, cinquenta e quatro pacientes adultos com LES receberam uma dose da VPP23 entre fevereiro de 2013 e abril de 2014, sendo 28 destes classificados no grupo IS e 26 no grupo não-IS. Os níveis séricos dos anticorpos IgG contra 7 sorotipos do pneumococo foram mensurados por ensaio imunoenzimático em amostras colhidas imediatamente antes da imunização e também 4 a 6 semanas após. Definiu-se como sendo resposta vacinal adequada (para cada sorotipo testado) a ocorrência de quadruplicação das concentrações basais de IgG anti-pneumococo ou a obtenção de soroconversão, isto é, nível pré-vacinal de IgG anti-pneumococo $< 1.3 \mu\text{g/mL}$ e pós-vacinal $\geq 1.3 \mu\text{g/mL}$. Cada participante imunizado deveria responder satisfatoriamente para 70% ou mais dos sorotipos testados. Como objetivos secundários, avaliou-se a razão de aumento das concentrações dos anticorpos IgG anti-pneumococo, as respostas de duplicação da concentração basal de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo testado e o efeito da vacinação sobre a atividade do lúpus. Observamos que os pacientes do grupo IS eram mais jovens, possuíam doença mais ativa e faziam uso de dose mais elevada de prednisona (mediana da dose = 5,0 mg/dia versus 4,5 mg/dia; $p = 0,01$). Não houve diferença significativa entre os grupos quanto às respostas de duplicação e de quadruplicação das concentrações basais de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo testado. A razão média de aumento da concentração dos anticorpos IgG anti-pneumococo foi maior no grupo não-IS do que no grupo IS (6,4 versus 4,7; $p = 0,001$). 38,8% dos pacientes soroconverteram adequadamente, ao passo que 29,6% responderam positivamente pelo critério de quadruplicação, não havendo diferença significativa de resposta entre os grupos de pacientes. Não houve modificação da atividade basal do lúpus. Em suma, a resposta imunológica à VPP23 foi ruim entre os pacientes adultos com LES, principalmente naqueles sob imunossupressão terapêutica.

Palavras-chave: Lúpus eritematoso sistêmico. Tratamento. Imunossupressão. Imunossupressores. Imunogenicidade. Vacina anti-pneumocócica polissacarídica.

ABSTRACT

REZENDE, Rodrigo Poubel Vieira de. *Immunogenicity of pneumococcal polysaccharide vaccine in adult systemic lupus erythematosus patients undergoing immunosuppressive treatment*. 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

Owing to the higher morbimortality due to pneumococcal pneumonia amongst systemic lupus erythematosus (SLE) patients in comparison with the general population, there has been worldwide support by governments and professional organizations for vaccinating this particular patient population against pneumococcal disease in order to tackle this adverse scenario. Nevertheless, few studies with adult SLE patients have examined the antibody response following pneumococcal vaccination, especially among those under immunosuppressive therapy. Thus, in this study we aimed to evaluate the humoral immune response to the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23) in adult SLE individuals undergoing and not undergoing therapeutic immunosuppression (IS group and non-IS group, respectively). Fifty-four adult SLE patients received one dose of PPSV23 between february 2013 and april 2014, of whom 28 belonged to the IS group and 26 to the non-IS group. The serum levels of immunoglobulin G (IgG) antibodies to seven pneumococcal serotypes were measured by enzyme-linked immunosorbent assay from samples collected immediately before and between 4 to 6 weeks after pneumococcal immunization. An adequate serotype-specific vaccine response was defined as a four-fold or greater increase in baseline IgG anti-pneumococcal antibody levels or as a pre-vaccine level $< 1.3 \mu\text{g/mL}$ and post-vaccine $\geq 1.3 \mu\text{g/mL}$ (i.e., seroconversion). Each immunized subject should then respond appropriately to at least 70% of the serotypes tested. We secondarily evaluated the fold rise in IgG anti-pneumococcal antibody levels, the two-fold response rate over baseline anti-pneumococcal levels for each specific serotype, and the effect of immunization on lupus disease activity. At baseline, IS group patients were significantly younger, had a more active disease and used a higher dosage of prednisone (median dose = 5 mg/day vs 4.5 mg/day; $p = 0.01$). There were no differences between the treatment groups in the two- and four-fold increase rate in IgG levels over baseline against each serotype tested. The mean ratio of increase in anti-pneumococcal levels was higher in the non-IS group than in the IS group (6.4 vs 4.7; $p = 0.001$). A positive seroconversion response was reached by 38.8% of the patients, whereas 29.6% of them responded adequately by the four-fold response criterion, having no significant differences in response rates between the groups. Lupus disease activity remained unchanged in both groups. In sum, the pneumococcal polysaccharide vaccine was poorly immunogenic in this group of adults with SLE, especially those under therapeutic immunosuppression.

Keywords: Systemic lupus erythematosus. Treatment. Immunosuppression. Immunosuppressants. Immunogenicity. Pneumococcal polysaccharide vaccine.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos prévios de imunogenicidade da VPP em adultos.....	19
Tabela 2 - Características gerais dos pacientes.....	26
Tabela 3 - Respostas de soroconversão por sorotipo.....	27
Tabela 4 - Respostas de quadruplicação por sorotipo.....	28
Tabela 5 - Respostas vacinais dos pacientes.....	29
Tabela 6 - Concentrações dos anticorpos anti-pneumococo.....	30
Tabela 7 - Razões de aumento dos níveis dos anticorpos anti-pneumococo..	30
Tabela 8 - Respostas de duplicação por sorotipo.....	31
Tabela 9 - Alterações imunológicas e atividade de doença.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
AR	Artrite reumatoide
AZA	Azatioprina
C3	Proteína 3 do sistema complemento
C4	Proteína 4 do sistema complemento
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CFM	Ciclofosfamida
CH50	Complemento hemolítico total
DMARD	<i>Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drug</i>
DNA	Ácido desoxirribonuclêico
DP	Desvio Padrão
ELISA	Ensaio imunoenzimático
EUA	Estados Unidos da América
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
HPV	Papilomavírus humano
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IgA	Imunoglobulina A
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
IS	Com imunossupressão terapêutica
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
MMCD	Medicamento modificador do curso da doença
MMF	Micofenolato de mofetila
MTX	Metotrexato
PDN	Prednisona
RMP	Razão de Mortalidade Padronizada
SBIM	Sociedade Brasileira de Imunizações
SBR	Sociedade Brasileira de Reumatologia
SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i>
SLEDAI-2K	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index-2000</i>

SLICC	<i>Sytemic Lupus International Collaborating Clinics</i>
TNF	Fator de necrose tumoral
VPC	Vacina anti-pneumocócica conjugada
VPC13	Vacina anti-pneumocócica conjugada 13-valente
VPP	Vacina anti-pneumocócica polissacarídica
VPP14	Vacina anti-pneumocócica polissacarídica 14-valente
VPP23	Vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	12
1	OBJETIVOS	20
1.1	Objetivo principal	20
1.2	Objetivos secundários	20
2	PACIENTES E MÉTODOS	21
2.1	Delineamento do estudo	21
2.2	População de estudo	21
2.3	Vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente	22
2.4	Avaliação das concentrações dos anticorpos anti-pneumococo	22
2.5	Avaliação da imunogenicidade vacinal	23
2.6	Avaliação clínico-laboratorial	23
2.7	Análise estatística	24
3	RESULTADOS	25
3.1	Características gerais dos pacientes	25
3.2	Respostas vacinais	27
3.3	Segurança da vacina	31
4	DISCUSSÃO	33
	CONCLUSÕES	39
	REFERÊNCIAS	40
	APÊNDICE A – Ficha clínica – LES.....	45
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	47
	APÊNDICE C – Índice SLEDAI-2K.....	49
	APÊNDICE D – Artigo submetido para publicação em periódico internacional.	51
	ANEXO – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.....	65

INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é considerado o protótipo das doenças imuno-mediadas, apresentando caracteristicamente evolução crônica com flutuação dos sintomas, gravidade variável e amplo espectro de manifestações clínicas (Bertsias et al. 2012). Devido à diversidade de alterações laboratoriais e pleomorfismo em sua apresentação e curso clínicos, podemos admitir que o LES seja mais uma síndrome do que uma entidade nosológica única (Bertsias et al. 2012)

Estudos epidemiológicos mostram que as taxas de incidência do lúpus quase triplicaram nos últimos 40 anos, principalmente devido ao melhor reconhecimento das formas mais brandas de apresentação (Bertsias et al. 2012). Atualmente, as taxas de incidência na América do Norte, América do Sul e na Europa são estimadas em 2 a 8 casos por 100 mil habitantes/ano (Vasudevan et al. 2011). No Brasil, encontraram-se taxas de incidência de 8,7 casos por 100 mil habitantes/ano em Natal, Rio Grande do Norte (Villar et al. 2003) e de 4,8 por 100 mil/habitantes/ano em Cascavel, Paraná (Nakashima et al. 2011). As mulheres são, em média, nove vezes mais afetadas do que os homens, assim como o são afro-americanos e hispano-americanos em comparação com caucasianos (Bertsias et al. 2012). Aproximadamente 65% dos casos têm início entre 16 e 55 anos de idade, 20% antes dos 16 anos de idade e 15% após os 55 anos de idade (Simard et al. 2011).

Diversos trabalhos sugerem que o LES possua etiologia multifatorial, havendo interação de fatores genéticos, ambientais e hormonais para o desenvolvimento das anormalidades imunológicas características da doença (Cooper et al. 2002). Dentre as dezenas de genes de suscetibilidade já identificados, as maiores taxas de risco estão relacionadas às deficiências das frações C1q, C4 e C2 do sistema complemento (Barcellos et al. 2009). Estudos em crianças sugerem que o vírus Epstein-Barr poderia induzir o início do processo de desregulação imune que acaba por precipitar o desenvolvimento das manifestações clínicas do lúpus, bem como poderia determinar a reativação dos sintomas em pacientes com doença já estabelecida (James et al. 2006). O mesmo também foi descrito com bactérias, micobactérias e protozoários (Steinberg et al. 1995). A exposição à luz ultravioleta também se configura como importante gatilho para o início dos sintomas da doença. A radiação ultravioleta pode levar à apoptose de queratinócitos e subsequente exposição de autoantígenos ao sistema imunológico, assim como pode também estimular a secreção de moléculas pró-inflamatórias pelos queratinócitos (ex: fator de necrose tumoral- α ; interleucinas 1, 3 e 6) que, por sua vez, estimularão os linfócitos B

autorreativos a produzirem mais autoanticorpos (Lehmann et al. 1990). Quanto à possível interferência dos hormônios sexuais sobre a incidência do lúpus, Sánchez-Guerrero et al. (1997) observaram um leve aumento do risco de desenvolvimento da doença associado ao uso de contraceptivo oral combinado em um estudo que acompanhou cerca de 121 mil mulheres entre 1976 e 1990. Durante o mesmo período de observação, Sánchez-Guerrero et al. (1995) também notaram um aumento do risco de surgimento do lúpus entre mulheres menopausadas que receberam terapia de reposição estrogênica comparado com um grupo de mulheres menopausadas que não receberam este tratamento. Em relação à influência dos hormônios sexuais sobre a atividade do lúpus, Buyon et al. (2005) mostraram que mulheres menopausadas com LES que receberam terapia de reposição hormonal combinada por 12 meses apresentaram aumento significativo do risco de exacerbação do lúpus quando comparado com mulheres menopausadas tratadas com placebo, porém apenas com relação às manifestações leves a moderadas. Em contrapartida, Petri et al. (2005) não observaram aumento do risco de descompensação do lúpus em mulheres não-menopausadas com doença estável que receberam anticoncepção oral combinada.

Ainda em relação à patogênese do LES, observa-se a participação de uma multiplicidade de células e moléculas nos mecanismos de apoptose e das respostas imunológicas inata e adaptativa. Em linhas gerais, os autoantígenos liberados pelas células apoptóticas são apresentados por células apresentadoras de antígenos, como células dendríticas e linfócitos B, aos linfócitos T que, ativados, estimulam os linfócitos B a produzirem anticorpos contra autoantígenos circulantes e/ou teciduais. Vias de ativação independentes dos linfócitos T também são descritas, como, por exemplo, a interação entre os linfócitos B e os receptores *Toll-like*. Em última análise, os imunocomplexos recém-formados, juntamente com o sistema complemento ativado, serão os principais mediadores/ativadores da resposta inflamatória sistêmica e do dano tecidual (Bertsias et al. 2012). Vale ressaltar que os pacientes com LES frequentemente apresentam deficiência dos mecanismos de depuração dos imunocomplexos e das células apoptóticas, levando à exposição prolongada dos autoantígenos a um sistema imune desregulado e autorreativo (Hahn et al. 2005).

Na prática clínica, os critérios para classificação do LES são frequentemente utilizados para fins diagnósticos, apesar de terem sido originalmente desenvolvidos e validados para inclusão de pacientes em ensaios clínicos. O critério de classificação mais amplamente utilizado é o do Colégio Americano de Reumatologia (ACR, do inglês *American College of Rheumatology*), cuja última revisão ocorreu em 1997 (Hochberg 1997). De acordo com este critério, classifica-se o indivíduo com LES quando há o preenchimento de pelo menos 4 de 11

descritores representativos dos principais sintomas e achados clínico-laboratoriais desta afecção. Mais recentemente, um grupo internacional de especialistas em lúpus (SLICC, do inglês *Systemic Lupus International Collaborating Clinics*) publicou um novo critério classificatório que incluiu outras características clínicas e laboratoriais, além de exigir a presença de pelo menos uma manifestação clínica e um achado laboratorial para fins de classificação (Petri et al. 2012). Comparado com o critério de classificação do ACR, o critério SLICC possui maior sensibilidade (97% versus 83%; $p < 0,0001$) e menor especificidade (84% versus 96%; $p < 0,0001$), permitindo dessa forma a classificação de um número maior de pacientes com LES.

Ao longo das últimas décadas, a sobrevida dos pacientes com LES aumentou consideravelmente graças ao melhor controle da doença com os novos esquemas de imunossupressão; ao avanço da medicina em geral (ex: antihipertensivos, diálise, transplante renal, antibióticos, etc); ao melhor entendimento da fisiopatogenia e ao diagnóstico mais precoce do lúpus. Em meados do século passado, por exemplo, os pacientes com LES possuíam sobrevida de 5 anos inferior a 50% (Merrell et al. 1955). Já nos dias atuais, um estudo multicêntrico europeu com 1000 pacientes com LES (97,1% brancos) acompanhados entre 1990 e 2000 revelou uma sobrevida de 10 anos de 92% (Cervera et al. 2003). Além do aumento da sobrevida, houve também uma mudança evolutiva do perfil de mortalidade no lúpus. No estudo prospectivo conduzido por Cervera et al. (2003), observou que a maioria dos óbitos deveu-se à atividade do lúpus (26,5%), trombose (26,5%) e infecção (25%). À semelhança do padrão bimodal de mortalidade descrito originalmente por Urowitz et al. (1976), infecção e atividade de doença foram as principais causas de óbito nos primeiros 5 anos de acompanhamento (1990-95), ao passo que as complicações cardiovasculares ateroscleróticas constituíram a principal causa de morte nos últimos 5 anos de seguimento clínico (1995-2000).

Semelhante perfil de mortalidade também foi documentado em uma grande coorte multicêntrica internacional envolvendo 9,547 pacientes com LES acompanhados entre 1958 e 2001 (Bernatsky et al. 2006). Neste estudo, foram computados 1,255 óbitos ao longo do referido período de observação, perfazendo uma razão de mortalidade padronizada (RMP) de 2,4 (intervalo de confiança 95%: 2,3-2,5). Com relação às causas específicas de morte, os pacientes com LES apresentaram RMP significativamente mais elevada (comparado com a população geral) para doenças do aparelho circulatório, cardiopatia, câncer hematológico, linfoma não-Hodgkin, câncer de pulmão, infecções, pneumonia e nefropatia. Houve uma redução em 60% da RMP geral entre os períodos de 1970-79 (RMP = 4,9) e 1990-2001 (RMP = 2), achado este consistente com o aumento de sobrevida no lúpus registrado nas últimas décadas. Os autores

também observaram uma redução proporcional das mortes por infecção e por nefropatia entre os intervalos supracitados, diferentemente das doenças do aparelho circulatório.

No Brasil, Souza et al. (2012) analisaram todos os atestados de óbito emitidos no Estado de São Paulo entre 1985 e 2007 cujo código internacional de classificação para LES estivesse escrito. No total, o lúpus sistêmico foi mencionado como causa subjacente de morte em 3,133 ocasiões e como causa não-subjacente em 1,682. Tendo o LES como causa básica de morte, as principais causas imediatas de morte foram: insuficiência renal, doenças do aparelho circulatório, pneumonia e sepse. Na comparação entre os períodos de 1985-89 e 2003-07, houve um aumento proporcionalmente significativo de óbitos por pneumonia (15,6% versus 31,8%), sepse (12% versus 33,4%) e doenças hipertensivas (5,1% versus 10,6%), ao passo que as mortes por insuficiência renal declinaram significativamente (36,5% versus 26,5%). Entre 1985 e 2007, morreram proporcionalmente mais pacientes com LES do que da população geral quanto à insuficiência renal, tuberculose, sepse, pneumonia e doenças do aparelho digestivo.

Além de apresentarem maior morbimortalidade infecciosa comparado à população geral, os pacientes com LES também são mais propensos a adquirirem infecções devido à: defeitos nos mecanismos leucocitários de quimiotaxia, reconhecimento de membrana celular, ligação à microorganismos, fagocitose, metabolismo oxidativo e produção de interleucina 8 (Hsieh et al. 1994, Petri et al. 1998); redução do número e da atividade dos linfócitos T contra aloantígenos, principalmente durante os períodos de atividade do lúpus e com o uso prolongado de corticosteróides (Bermas et al. 1994); redução do número de neutrófilos (García et al. 2002); disfunção do sistema macrofágico-monocítico (Alarcón et al. 2006); deficiência de complemento (adquirida ou herdada), principalmente da fração C4 (Ho et al. 2001); hipogamaglobulinemia (deficiência de IgA ou IgG) (Cronin et al. 1989).

Somando-se aos fatores intrínsecos predisponentes à infecção, a suscetibilidade infecciosa no lúpus também está relacionada à atividade de doença e ao tratamento imunossupressor empregado. Neste sentido, um estudo retrospectivo realizado na coorte de LES da Universidade de Toronto mostrou que o principal fator preditor de infecção à admissão hospitalar foi uma pontuação > 8 no índice de atividade de doença SLEDAI (do inglês, *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*) (Duffy et al. 1991). Semelhante correlação entre atividade de doença e risco aumentado de infecção também foi constatada em um estudo prospectivo conduzido na coorte de LES da Universidade Johns Hopkins (Petri et al. 1992).

Conforme revisão da literatura recentemente realizada por Danza e Ruiz-Irastorza (2013), os seguintes medicamentos/tratamentos estão definitivamente associados com aumento do risco infeccioso: prednisona (PDN) em dose diária superior a 7,5-10 mg/dia; pulsoterapia

com metilprednisolona (1g/dia por 3 dias consecutivos); pulsoterapia com ciclofosfamida (CFM), principalmente com dose cumulativa elevada, e o uso de rituximabe (RTX), particularmente nos primeiros seis meses após a infusão. Segundo os mesmos autores, não está claro se existe aumento do risco de infecção grave entre os pacientes com LES usuários de azatioprina (AZA), micofenolato de mofetila (MMF) ou belimumabe. Por outro lado, o uso de antimaláricos foi associado à redução do risco geral de infecção (Ruiz-Irastorza et al. 2009, Sisó et al. 2008). No que se refere às infecções virais agudas, Borba et al. (2010) demonstraram que o tratamento do lúpus, particularmente o uso combinado de corticosteróides e imunossuppressores, foi o principal fator associado à incidência de herpes zoster. As infecções virais crônicas também têm sido encontradas com maior frequência, sendo que um estudo nacional conduzido por Klumb et al. (2010) mostrou que a prevalência de infecção cervical pelo papilomavírus humano (HPV, do inglês *human papillomavirus*) em mulheres com LES foi três vezes maior do que na população geral e nove vezes maior naquelas sob uso prolongado de imunossuppressores.

Com relação aos microorganismos causadores de infecção, não há diferença entre os pacientes com LES e a população geral. As bactérias constituem os principais patógenos, seguido por vírus e fungos. Os sítios de infecção mais comumente envolvidos e os principais agentes infecciosos respectivamente relacionados são: trato respiratório e *Streptococcus pneumoniae*; trato urinário e *Escherichia coli*; pele/partes moles e *Staphylococcus aureus* (Danza et al. 2013).

Tendo em vista a elevada frequência de infecções na população de pacientes com LES, diversos autores têm sugerido a adoção de certas medidas preventivas visando à redução do risco infeccioso como, por exemplo: incentivo ao uso de agente antimalárico por todos os pacientes com LES, salvo contraindicações; imunização contra certas doenças infecciosas passíveis de prevenção; uso da menor dose diária efetiva de corticosteróide e pelo menor tempo possível e o emprego de regimes mais brandos de pulsoterapia tanto de glicocorticóide quanto de CFM (Brenol et al. 2013, CDC 2012, van Assen et al. 2011).

Conforme as atuais recomendações de vacinação da liga européia contra o reumatismo (EULAR, do inglês *European League Against Rheumatism*), todos os indivíduos com doença reumática inflamatória autoimune (ex: LES) devem ser interrogados logo nas primeiras consultas quanto à cobertura vacinal contra *Haemophilus influenzae b*, hepatites virais A e B, HPV, influenza, *Neisseria meningitides*, rubéola (mulheres em idade fértil apenas), *Streptococcus pneumoniae* e tétano (van Assen et al. 2011). Ainda segundo a publicação, a imunização com estas vacinas inativadas deve ocorrer preferencialmente durante a fase de

remissão da doença de base, havendo poucos dados na literatura acerca da eficácia e da segurança vacinais no contexto de doença ativa. Recomenda-se também que estes imunobiológicos sejam administrados antes da introdução dos medicamentos modificadores do curso da doença (MMCD) a fim de minimizar a interferência farmacológica sobre a resposta imune humoral.

Em linha com as diretrizes da EULAR, o consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia (SBR) sobre vacinação em pacientes com artrite reumatoide (AR), outra doença reumática autoimune associada ao aumento do risco infeccioso, também recomenda a atualização do cartão vacinal no que tange às vacinas inativadas supracitadas (Brenol et al. 2013). Com relação à vacinas anti-pneumocócicas, o referido consenso da SBR reconhece a superioridade imunogênica da formulação conjugada sobre a polissacarídica pura, porém salienta que a rede de saúde pública disponibiliza apenas a vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente (VPP23) para a população adulta sob risco de doença pneumocócica. Como vantagens da participação dos linfócitos T no processo de resposta imunológica desencadeado pela vacinação anti-pneumocócica conjugada (antígeno polissacáride + carreador protéico), pode-se citar a formação de anticorpos anti-pneumococo de alta afinidade, o desenvolvimento de memória imunológica e a ocorrência de responsividade com doses repetidas da vacina (de Roux et al. 2008, Musher et al. 2008, O'Brien et al. 2007).

Face às evidências favoráveis à vacina anti-pneumocócica conjugada (VPC), a Sociedade Brasileira de Imunizações (SBIM) e o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*) dos Estados Unidos da América (EUA) recomendam que a primovacinação de adultos com condições imunodebilitantes (ex: LES) seja feita com uma dose da VPC 13-valente (VPC13), seguido da aplicação da VPP23 após intervalo mínimo de dois meses e com reforço da VPP23 após cinco anos da primeira dose (CDC 2012, SBIM 2015).

Na literatura, poucos foram os estudos prospectivos que avaliaram a resposta imune humoral à VPP em adultos com LES. Chama atenção o emprego de diferentes critérios de avaliação da resposta vacinal, assim como o fato de que poucos pacientes com LES encontravam-se em uso de imunossupressores à época da imunização anti-pneumocócica (Tabela 1). Levando em consideração esta escassez de estudos, principalmente envolvendo pacientes com LES em uso de imunossupressores, além da indisponibilidade da VPC na rede pública de saúde brasileira para adultos sob risco de doença pneumocócica, desenvolvemos o presente estudo com o objetivo principal de avaliar o efeito da imunossupressão terapêutica sobre a imunogenicidade da VPP23 em um grupo de pacientes adultos com LES regularmente

acompanhados no ambulatório de reumatologia do Hospital Universitário da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Tabela 1- Estudos prospectivos em adultos com LES avaliando a resposta imune humoral à vacina anti-pneumocócica polissacarídica

Autores	Ano de publicação	Pacientes (n)	Usuários de IS (n)	Sorotipos estudados (n)	Medidas de desfecho	Influência do tratamento imunossupressor sobre a resposta vacinal
Klippel et al.	1979	40	0	12	[] ACs anti-pneumococo e razão da [] pós/pré-vacinação	Nenhum paciente fazia uso de IS
Jarrett et al.	1980	38	9	12	[] ACs anti-pneumococo e $\uparrow \geq 2x$ [] basal	Sem diferença de resposta entre os grupos AZA + PDN (média = 20 mg/dia), PDN ≥ 20 mg/dia (média = 28,7 mg/dia) e PDN < 20 mg/dia (média = 6,7 mg/dia)
Lipnick et al.	1985	77	17	12	[] ACs anti-pneumococo e $\uparrow \geq 2x$ [] basal	Sem diferença de resposta entre os grupos tratados com e sem IS (dose média de PDN não informada)
Battafarano et al.	1998	73	15	23	Razão da [] pós/pré-vacinação	Avaliação de resposta conjunta à VPP23, TT e Hib
Tarján et al.	2002	18	2	2	[] ACs anti-pneumococo	Análise não realizada
Elkayam et al.	2002	24	9	7	$\uparrow \geq 2x$ [] basal e \uparrow [] em 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Sem efeito deletério pelo uso de IS
Pisoni et al.	2003	35	4	23	[] ACs e $\uparrow \geq 2x$ [] basal	Análise não realizada

[] = concentração; ACs = anticorpos; IS = imunossupressor; AZA = azatioprina; PDN = prednisona; VPP23 = vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente; TT = toxóide tetânico; Hib = vacina contra *Haemophilus influenzae* tipo B.

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo principal

Avaliar a resposta imune humoral à VPP23 em pacientes adultos com LES sob imunossupressão terapêutica.

1.2 Objetivos secundários

- a) Comparar a resposta imune humoral à VPP23 entre pacientes adultos com LES sob imunossupressão terapêutica versus sem imunossupressão terapêutica.
- b) Avaliar os efeitos adversos locais e sistêmicos da VPP23.
- c) Avaliar a possível influência da VPP23 sobre a atividade de doença em ambos os grupos de pacientes adultos com LES.

2 PACIENTES E MÉTODOS

2.1 Delineamento do estudo

A hipótese nula formulada neste estudo foi a de que a imunogenicidade da VPP23 é normal nos pacientes com LES, inclusive quando sob imunossupressão terapêutica. Para rejeitar esta hipótese, elaboramos o presente estudo prospectivo onde avaliamos as respostas imunológicas à VPP23 em dois grupos distintos de pacientes adultos com LES (com e sem imunossupressão terapêutica) e comparamo-nas indiretamente com os resultados esperados para a população geral adulta a partir dos dados disponíveis na literatura. Devido à escassez de estudos prospectivos que avaliaram a resposta imune humoral à VPP entre os referidos grupos de pacientes, não foi possível calcularmos o tamanho amostral necessário para detectar possíveis diferenças de resposta entre os grupos de pacientes adultos com LES sob imunossupressão terapêutica e sem imunossupressão terapêutica.

2.2 População de estudo

Os pacientes com LES do presente estudo, cujo diagnóstico fora estabelecido em conformidade com os critérios de classificação do ACR revisados em 1997 (Hochberg 1997), foram selecionados dentre aqueles regularmente acompanhados no ambulatório da disciplina de reumatologia da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ, localizado no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE). As inclusões foram sequenciais, respeitando as consultas ambulatoriais agendadas no período de fevereiro de 2013 à abril de 2014. Os pacientes selecionados para este estudo foram inicialmente submetidos à entrevista com ficha clínica semi-estruturada (Apêndice A) a fim de coletar-se dados clínicos e demográficos, além de afastar aqueles que preenchessem qualquer dos critérios de exclusão. De forma arbitrária, consideramos que os pacientes com LES sob imunossupressão terapêutica (grupo IS) deveriam estar utilizando agentes imunossupressores (CFM, MMF ou AZA) pelo mínimo de seis meses antes da inclusão, não havendo restrição quanto à dose diária de PDN. Por outro lado, os pacientes considerados sem imunossupressão terapêutica (grupo não-IS) deveriam estar sem uso de drogas imunossupressoras e não terem utilizado mais do que 5 mg/dia de PDN por pelo menos seis meses anteriormente à imunização com a VPP23. Os critérios de exclusão à participação neste estudo foram: recebimento de vacina anti-pneumocócica nos cinco anos anteriores à data de inclusão neste estudo; tratamento com imunoglobulina humana intravenosa nos três meses anteriores à inclusão; tratamento com rituximabe nos doze meses que

antecederam à inclusão; gravidez à época da inclusão; história de reação alérgica vacinal; evidência de quadro infeccioso agudo à época da inclusão; recusa em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e o não retorno do paciente ao devido ambulatório na data prevista após a vacinação. Todos os pacientes selecionados assinaram o TCLE (Apêndice B), sendo esta pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE (número do parecer: 190.614; Apêndice C) e apoiada financeiramente pela Sociedade de Reumatologia do Rio de Janeiro e pelo Centro de Estudos em Reumatologia Pedro Ernesto.

2.3 Vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente

Todos os participantes receberam uma dose única intramuscular (0,5 mL) da VPP23 (Merck Sharp & Dohme). Cada dose imunizante da vacina continha 25 µg de cada um dos seguintes sorotipos capsulares de *Streptococcus pneumoniae* (dissolvidos em solução salina isotônica contendo 0,25% de fenol como conservante): 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F.

2.4 Avaliação das concentrações dos anticorpos IgG anti-pneumococo

Para fins de determinação das concentrações dos anticorpos IgG anti-pneumococo, amostras de sangue venoso periférico foram coletadas imediatamente antes e 4-6 semanas após a vacinação anti-pneumocócica. Logo após a coleta, as amostras foram centrifugadas e o soro obtido aliquotado em tubos de Eppendorf de 1 mL e mantido sob congelamento a - 20°C. Sete sorotipos do pneumococo (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F) tiveram dosados os níveis séricos dos anticorpos específicos por ensaio imunoenzimático (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) (Wernette et al. 2003). As amostras de soro foram pré-adsorvidas com o polissacarídeo C e com o sorotipo heterólogo 22F a fim de eliminar anticorpos não específicos que pudessem apresentar reatividade cruzada. Para evitar variações interplaca, as reações das amostras de cada paciente (uma amostra pré-vacinação e outra pós-vacinação) foram simultaneamente executadas na mesma placa de ELISA. Todas as placas utilizadas neste estudo foram do mesmo lote, eliminando assim o risco de variabilidade entre diferentes lotes de placas.

Todas as reações de ELISA foram realizadas em São Paulo pelo laboratório Fleury. De acordo com o método usado, os limites mínimo e máximo de detecção dos anticorpos IgG anti-pneumococo foram 0,5 µg/mL e 20 µg/mL, respectivamente, sendo os resultados reportados pelo Fleury como < 0,5 µg/mL e > 20 µg/mL considerados, para fins de cálculos, como sendo 0,4 µg/mL e 20,1 µg/mL, respectivamente.

2.5 Avaliação da imunogenicidade da vacina anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente

Para cada sorotipo estudado, considerou-se como resposta vacinal adequada a obtenção de nível sérico de IgG anti-pneumococo $\geq 1,3$ µg/ml (interpretação válida apenas para concentração basal < 1,3 µg/ml, sendo chamado de resposta de soroconversão) ou o incremento de quatro vezes ou mais na concentração dos anticorpos anti-pneumococo (Bonilla et al. 2005). Em relação à resposta vacinal de cada indivíduo imunizado, considerou-se como adequada quando da obtenção de resposta positiva para 70% ou mais dos sorotipos testados (Bonilla et al. 2005). Como critérios de resposta secundários, comparamos os níveis absolutos de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo testado, a razão média das concentrações de anticorpos anti-pneumococo pós e pré-vacinação e as respostas de duplicação da concentração basal de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo testado.

2.6 Avaliação clínico-laboratorial

Antes da imunização, todos os participantes do estudo foram entrevistados com o emprego de ficha clínica semi-estruturada (Apêndice A) a fim de obtenção dos dados clínico-demográficos, havendo revisão de prontuário apenas quando necessário. Exame físico fora realizado tanto no dia da vacinação quanto na visita de retorno (4 a 6 semanas após a imunização). Além da dosagem dos níveis séricos de anticorpos IgG contra sete sorotipos do pneumococo, os seguintes exames foram realizados imediatamente antes da vacinação e na visita de retorno: hemograma; creatinina sérica; IgA, IgM e IgG séricos (todos por nefelometria); fração C3 do complemento (nefelometria), fração C4 do complemento (nefelometria) e complemento sérico total (ELISA); urinálise e *spot* urinário (relação proteínas totais/creatinina em amostra isolada). A atividade global do lúpus foi avaliada nos períodos pré

e pós-vacina através do índice SLEDAI-2K (do inglês, *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index-2000*) (Gladman et al. 2002).

2.7 Análise estatística

Todas as variáveis estudadas foram inicialmente submetidas aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de Kolmogorov-Smirnov. Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) ou mediana (variação), conforme apropriado. As diferenças intragrupo foram analisadas pelo teste t pareado ou pelo teste de Wilcoxon *signed-rank*, conforme apropriado, sendo as comparações intergrupo realizadas pelo teste t não pareado ou pelo teste U de Mann-Whitney, conforme apropriado. Frequências foram comparadas utilizando-se o teste do qui-quadrado. Significância estatística foi definida como $p < 0,05$. A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando-se a versão 8.0 do *software* STATISTICA (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, EUA).

3 RESULTADOS

3.1 Características gerais dos pacientes

Sessenta e oito pacientes com LES receberam uma dose da VPP23 entre fevereiro de 2013 e abril de 2014. Destes, 14 (20,6%) foram excluídos do estudo, sendo 12 (17,6%) por não comparecerem à visita de retorno e 2 (2,9%) pelo início de tratamento imunossupressor no período entre a vacinação anti-pneumocócica e a data de reavaliação.

Dos 54 pacientes incluídos neste trabalho, 28 foram classificados no grupo IS e 26 no grupo não-IS (Tabela 2). À época da vacinação, ambos os grupos de pacientes apresentavam predomínio de mulheres e tempo médio de doença comparável, porém aqueles em uso de imunossupressores eram significativamente mais jovens. Quanto à terapêutica de base, pouco mais de 80% dos pacientes de cada grupo utilizavam hidroxicloroquina ($p = 0,80$ [qui-quadrado]). A frequência de uso de prednisona foi mais elevada no grupo IS (100% versus 76,9%, respectivamente; $p = 0,02$ [qui-quadrado]), assim como a mediana da dose diária (5 mg/dia de prednisona [variação: 2,1-20] versus 4,5 mg/dia de prednisona [variação: 1,2-5,0], respectivamente; $p = 0,01$ [teste de Mann-Whitney]). Os seguintes esquemas de imunossupressão foram utilizados nos seis meses anteriores à vacinação anti-pneumocócica: MMF em monoterapia (mediana da dose = 2 g/dia [variação: 1-3]); pulsoterapia venosa com CFM (mediana da dose cumulativa = 5,5 g [variação: 3,6-11,4]); AZA em monoterapia (mediana da dose = 100 mg/dia [variação: 75-200]); pulsoterapia venosa com CFM (média da dose cumulativa \pm DP = 6,2 g \pm 1,5) seguido de MMF (média da dose \pm DP = 2,6 g \pm 0,7) e pulsoterapia venosa com CFM (dose cumulativa = 8,8 g) seguido de AZA (dose = 150 mg/dia) (Tabela 2).

Tabela 2 - Características gerais dos pacientes com LES à inclusão no estudo

Variáveis	Grupo IS (n = 28)	Grupo não-IS ^a (n = 26)	P
Mulheres, n (%)	26 (92,8)	23 (88,4)	0,57
Idade, média ± DP, anos	35,5 ± 9,4	43,3 ± 11,7	0,008
Tempo de doença, média ± DP, anos	9,1 ± 7,2	12,1 ± 6,2	0,11
Tratamento			
Antimaláricos, n (%)	23 (82,1)	22 (84,6)	0,80
PDN, n (%)	28 (100)	20 (76,9)	0,02
MMF, n (%)	12 (42,8)	NA	NA
CFM, n (%)	6 (21,4)	NA	NA
AZA, n (%)	6 (21,4)	NA	NA
CFM → MMF ^b	3 (10,7)	NA	NA
CFM → AZA ^b	1 (3,5)	NA	NA
Creatinina, média ± DP, mg/dL	0,90 ± 0,28	0,89 ± 0,16	0,96
IgA, média ± DP, mg/dL ^c	348,1 ± 127,6	324,3 ± 134,6	0,52
IgM, média ± DP, mg/dL ^d	110,5 ± 59,2	108,4 ± 52,8	0,89
IgG, média ± DP, mg/dL ^e	1554,9 ± 445,6	1930,8 ± 491,8	0,006
SLEDAI-2K, pontuação mediana (variação) ^f	4 (0-15)	0 (0-6)	0,02
Nº de sorotipos por paciente com IgG anti-pneumococo ≥ 1,3 µg/mL, média ± DP	1,89 ± 1,59	2,53 ± 2,0	0,19

^a Três pacientes sem resultados de IgA, IgM e IgG e 5 sem SLEDAI-2K; ^b Significa troca de um imunossupressor pelo outro; ^c Referência = 70-400 mg/dL; ^d Referência = 60-350 mg/dL; ^e Referência = 650-1600 mg/dL; ^f Índice de atividade do lúpus utilizado neste estudo. Pontuação total: 0-105 pontos; Grupo IS = com imunossupressão terapêutica; grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica; DP = desvio padrão; PDN = prednisona; MMF = micofenolato de mofetila; CFM = ciclofosfamida; AZA = azatioprina; NA = não aplicável. Os valores de p foram determinados por teste de Mann-Whitney, teste t não-pareado ou qui-quadrado, conforme apropriado.

Os grupos de estudo estavam balanceados no que diz respeito às concentrações séricas de creatinina, IgA, IgM e quanto ao número médio (por paciente) de sorotipos testados cuja concentração pré-vacinal de anticorpos anti-pneumococo era considerada protetora, isto é, ≥ 1,3 µg/mL. Comparado com o grupo não-IS, o grupo IS possuía menor concentração sérica de

IgG, embora dentro dos valores de referência, além de atividade de doença mais elevada (Tabela 2).

3.2 Respostas vacinais

As taxas de soroconversão e de quadruplicação de cada sorotipo do pneumococo testado estão apresentadas nas tabelas 3 e 4, respectivamente. Após 4 a 6 semanas da imunização, as respostas de soroconversão específicas à cada sorotipo mostraram-se semelhantes nos dois grupos de pacientes, variando de 43,7% a 77,7% no grupo IS e de 52,3% a 90% no grupo não-IS ($p > 0,05$ em todas as comparações intergrupo) (tabela 3). Em relação às respostas de quadruplicação dos níveis basais de IgG anti-pneumococo, também não houve diferença significativa de resposta entre os grupos para cada sorotipo estudado, variando de 25% a 57,1% no grupo IS e de 38,4% a 73% no grupo não-IS ($p > 0,05$ em todas as comparações intergrupo) (Tabela 4).

Tabela 3- Respostas de soroconversão para cada sorotipo do pneumococo testado. ^a

Sorotipos	Grupo IS n = 28	Grupo não-IS n = 26	P
4	14/28 (50)	12/20 (60)	0,49
6B	10/22 (45,4)	11/21 (52,3)	0,64
9V	10/22 (45,4)	12/22 (54,5)	0,54
14	9/13 (69,2)	9/10 (90)	0,23
18C	14/18 (77,7)	10/15 (66,6)	0,47
19F	7/16 (43,7)	6/9 (66,6)	0,27
23F	12/24 (50)	10/19 (52,6)	0,86

^a Número de sorotipos que soroconverteram após a vacinação, isto é, com concentração pós-vacinal de IgG anti-pneumococo $\geq 1,3 \mu\text{g/mL}$ e pré-vacinal $< 1,3 \mu\text{g/mL}$ / total de sorotipos com concentração pré-vacinal de IgG anti-pneumococo $< 1,3 \mu\text{g/mL}$ (%). Valores de P calculados por qui-quadrado; Grupo IS = com imunossupressão terapêutica; Grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica.

Tabela 4. Respostas de quadruplicação da concentração basal dos anticorpos IgG anti-pneumococo para cada sorotipo testado. ^a

Sorotipos	Grupo IS (n = 28)	Grupo não-IS (n = 26)	P
4	11/28 (39,2)	13/26 (50)	0,42
6B	10/28 (35,7)	11/26 (42,3)	0,61
9V	12/28 (42,8)	14/26 (53,8)	0,41
14	15/28 (53,5)	16/26 (61,5)	0,55
18C	16/28 (57,1)	19/26 (73)	0,22
19F	7/28 (25)	10/26 (38,4)	0,28
23F	13/28 (46,4)	14/26 (53,8)	0,58

^a Número de sorotipos que quadruplicaram a concentração basal de anticorpos IgG anti-pneumococo / total de sorotipos testados (%). Valores de P calculados por qui-quadrado; Grupo IS = com imunossupressão terapêutica; Grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica.

As respostas imunológicas dos pacientes pós-vacinação anti-pneumocócica estão exibidas na tabela 5. Vinte e um pacientes (38,8%) responderam adequadamente à vacina (isto é, para 70% ou mais dos sorotipos possíveis) pelo critério de soroconversão, ao passo que 16 (29,6%) o fizeram pelo critério de quadruplicação dos valores basais de IgG anti-pneumococo. Apesar do pior resultado obtido pelo grupo de pacientes em uso de imunossupressores, as taxas de resposta vacinal adequada não diferiram significativamente entre os grupos (p = 0,62 pelo critério de soroconversão e p = 0,44 pelo de quadruplicação).

Tabela 5- Respostas imunológicas dos pacientes adultos com LES à vacinação anti-pneumocócica polissacarídica 23-valente

Percentual de sorotipos testados por paciente com resposta adequada à vacinação	Respostas de soroconversão ^a		Respostas de quadruplicação ^b	
	Grupo IS (n = 28)	Grupo não-IS (n = 26)	Grupo IS (n = 28)	Grupo não-IS (n = 26)
< 50%	10 (35.7)	6 (23.1)	16 (57.1)	10 (38.5)
50-69%	8 (28.6)	9 (34.6)	5 (17.9)	7 (26.9)
≥ 70%	10 (35.7)	11 (42.3)	7 (25)	9 (34.6)

^a Número (%) de pacientes em cada grupo de tratamento que soroconverteram (IgG anti-pneumococo pós-imunização $\geq 1,3 \mu\text{g/mL}$ e pré-imunização $< 1,3 \mu\text{g/mL}$) para < 50%, 50-69% e $\geq 70\%$ dos sorotipos testados; ^b Número (%) de pacientes em cada grupo de tratamento que quadruplicaram a concentração basal de IgG anti-pneumococo para < 50%, 50-69% e $\geq 70\%$ dos sorotipos testados; Grupo IS = com imunossupressão terapêutica; grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica.

Os níveis séricos absolutos dos anticorpos IgG anti-pneumococo pré e pós-vacinação estão mostrados na tabela 6. Antes da vacinação, ambos os grupos possuíam concentrações comparáveis de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo testado. Após a imunização, houve um aumento significativo das concentrações de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo avaliado, sendo estes valores significativamente maiores no grupo não-IS para 2 dos 7 sorotipos estudados (14 e 19F).

Tabela 6 - Valores medianos das concentrações séricas ($\mu\text{g/mL}$) dos anticorpos IgG anti-pneumococo

Sorotipos	Grupo IS (n = 28)		Grupo não-IS (n = 26)		P ^b
	Pré-vacinação	Pós-vacinação ^a	Pré-vacinação	Pós-vacinação ^a	
4	0,55	1,40	0,7	2,65	0,23
6B	0,45	1,65	0,5	2,3	0,37
9V	0,45	2,35	0,4	2,85	0,69
14	1,40	12,60	1,95	20,1	0,03
18C	0,80	5,30	0,95	7,75	0,30
19F	0,90	1,75	1,65	7,9	0,01
23F	0,40	1,80	0,65	4,45	0,18

^a $p < 0,001$ na comparação com a concentração basal de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo testado (Teste de Wilcoxon); ^b Concentração pós-vacinal de IgG anti-pneumococo no grupo IS versus concentração pós-vacinal de IgG anti-pneumococo no grupo não-IS (Teste de Mann-Whitney); Grupo IS = com imunossupressão terapêutica; Grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica.

As razões de aumento das concentrações séricas dos anticorpos IgG anti-pneumococo estão mostradas na tabela 7. No grupo IS, a razão de aumento sorotipo-específica variou de 1,9 a 9, ao passo que no grupo não-IS variou de 3,7 a 10,3, sendo a razão média de aumento significativamente maior no grupo não-IS ($6,4 \pm 2,3$ (DP) versus $4,7 \pm 2,4$ no grupo IS; $p = 0,001$ [teste t não-pareado]).

Tabela 7- Razões de aumento (pós/pré-vacina) das concentrações séricas dos anticorpos IgG anti-pneumococo

Sorotipos	Grupo IS (n = 28)	Grupo não-IS (n = 26)
4	2,5	3,7
6B	3,6	4,6
9V	5,2	7,1
14	9	10,3
18C	6,6	8,1
19F	1,9	4,7
23F	4,5	6,8

Grupo IS = com imunossupressão terapêutica;
Grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica.

As respostas de duplicação das concentrações basais de IgG anti-pneumococo para cada sorotipo estão dispostas na tabela 8. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as

taxas de resposta dos grupos com e sem imunossupressão terapêutica, variando de 46,4% a 78,5% no grupo IS e de 65,3% a 84,6% no grupo não-IS.

Tabela 8 - Respostas de duplicação das concentrações basais dos anticorpos IgG anti-pneumococo. ^a

Sorotipos	grupo IS (n = 28)	grupo não-IS (n = 26)	P
4	14/28 (50)	18/26 (69,2)	0,15
6B	14/28 (50)	18/26 (69,2)	0,15
9V	18/28 (64,2)	17/26 (65,3)	0,93
14	21/28 (75)	21/26 (80,7)	0,85
18C	22/28 (78,5)	22/26 (84,6)	0,82
19F	13/28 (46,4)	17/26 (65,3)	0,16
23F	16/28 (57,1)	20/26 (76,9)	0,12

^a Número de sorotipos que duplicaram a concentração basal de IgG anti-pneumococo / total de sorotipos testados (%). Valores de P calculados por qui-quadrado; grupo IS = com imunossupressão terapêutica; grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica.

3.3 Segurança da vacina

As concentrações séricas das frações C3 e C4 do complemento assim como as pontuações no SLEDAI-2K estão disponíveis na tabela 9. Após 4-6 semanas da vacinação, não houve consumo do complemento e nem incremento da atividade de doença em ambos os grupos de pacientes. Apenas um paciente (grupo IS) obteve viragem sorológica dos títulos de anti-DNA dupla hélice. Não foram registrados eventos adversos sistêmicos até 4-6 semanas da vacinação, havendo apenas esporádicas queixas relativas ao sítio de aplicação da vacina.

Tabela 9 - Parâmetros imunológicos e índice de atividade do lúpus

Variável	Grupo IS (n = 28)			Grupo não-IS (n = 26)		
	Pré- vacinação	Pós- vacinação	P	Pré- vacinação	Pós- vacinação	P
C3, média (DP) ^a	131,2 (44,8)	155,9 (60,3)	0,002	139,2 (40,0)	147,7 (32,5)	0,13
C4, média (DP) ^a	28,9 (15,4)	31,4 (15,8)	0,15	22,3 (9,0)	23,1 (10,6)	0,67
SLEDAI-2K, mediana (variação) ^b	4 (0-15)	4 (0-14)	0,48	0 (0-6)	0 (0-4)	NA

^a Valores pré e pós-vacinação disponíveis para 27 pacientes no grupo IS e para 24 pacientes no grupo não-IS. Valores de P calculados por teste t pareado; ^b Índice de atividade do lúpus cuja pontuação total varia de 0-105 pontos. Valores pré e pós-vacinação disponíveis para 27 pacientes no grupo IS e para 10 no grupo não-IS. Valor de P no grupo IS calculado pelo teste de Wilcoxon; Grupo IS = com imunossupressão terapêutica; Grupo não-IS = sem imunossupressão terapêutica; DP = desvio padrão; NA = não aplicável. A pontuação no SLEDAI-2K variou em apenas um paciente do grupo não-IS.

4 DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos neste estudo, a VPP23 mostrou-se pobremente imunogênica nesta população de pacientes adultos com LES, principalmente naqueles sob imunossupressão terapêutica, aspecto este clinicamente significativo à medida que são estes os pacientes sob maior risco infeccioso, incluídas as infecções pneumocócicas. Dos 54 pacientes que completaram o estudo, 38,8% atingiram respostas adequadas de soroconversão e 29,6% de quadruplicação das concentrações basais dos anticorpos IgG anti-pneumococo. À semelhança dos estudos anteriores realizados em pacientes com doença reumática inflamatória autoimune (Buhler et al. 2015), a VPP23 mostrou-se também segura e não levou à piora da atividade do lúpus em ambos os grupos de pacientes.

Por outro lado, estes resultados não podem ser considerados totalmente inesperados quando analisados à luz das respostas encontradas em outros estudos de imunogenicidade da VPP com pacientes em uso de agentes imunossupressores e/ou imunomoduladores. Em um trabalho com 47 controles saudáveis e 149 pacientes com AR, dos quais 37 usavam metotrexato (MTX) em monoterapia e 112 utilizavam agente anti-TNF (do inglês, *Tumor Necrosis Factor*) com ou sem drogas antirreumáticas sintéticas modificadoras do curso da doença (DMARDs, do inglês *Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs*), apenas aqueles tratados com MTX em monoterapia obtiveram resposta vacinal inferior à do grupo controle, então estabelecida como a ocorrência de duplicação da concentração basal dos anticorpos anti-pneumococo (apenas dois sorotipos avaliados) (Kapetanovic et al. 2006). O MTX também foi considerado preditor de má resposta à vacinação anti-pneumocócica polissacarídica em um estudo que incluiu 93 pacientes adultos com AR e doença de Crohn, além de 18 controles saudáveis (Gelinck et al. 2008). Interessantemente, os autores deste trabalho observaram um efeito imunossupressor sinérgico sobre a resposta vacinal pela combinação agente anti-TNF + MTX, sendo o desfecho imunológico então definido como a obtenção de concentração de anticorpos anti-pneumococo $\geq 0,35$ $\mu\text{g/mL}$ associado à duplicação dos valores basais destes anticorpos. Em outro estudo que examinou a influência do RTX sobre a resposta vacinal anti-pneumocócica em 103 pacientes com AR, 57% daqueles em uso de RTX + MTX conseguiram duplicar a concentração basal dos anticorpos anti-pneumococo para 1 ou mais de 12 sorotipos testados contra 82% daqueles tratados apenas com MTX (Bingham et al. 2010). No geral, estes estudos com enfermidades imuno-mediadas distintas do LES também mostram um efeito deletério sobre a resposta humoral à VPP pelo uso de agentes imunomoduladores e/ou imunossupressores, podendo o efeito ser mais acentuado quando da combinação destes fármacos.

No presente trabalho, entretanto, nenhum dos participantes fazia uso de metotrexato ou imunobiológicos à época da imunização anti-pneumocócica, sendo a mediana da dose de prednisona ≤ 5 mg/dia em ambos os grupos de pacientes, o que pode sugerir que as diferenças de resposta intergrupo não sofreram influência dos corticosteróides, drogas estas com ação reconhecidamente imunossupressora em doses elevadas. Neste sentido, Aikawa et al. (2012) encontraram que o uso de prednisona (dose média = 17,4 mg/dia) foi o principal fator associado à pior resposta humoral anti-influenza A/H1N1 2009 em um grupo com 231 pacientes com doença reumática autoimune juvenil (41,8% com LES) na comparação com um grupo controle de 91 indivíduos saudáveis.

Além da questão medicamentosa, vários outros fatores contribuem para dificultar a interpretação da resposta humoral à vacinação anti-pneumocócica polissacarídica, a começar pela ausência de uma sólida definição na literatura a respeito da resposta humoral a ser normalmente esperada após a vacinação de indivíduos da população geral de diferentes faixas etárias (Paris e Sorensen, 2007). É sabido que a resposta humoral à VPP é altamente dependente da idade do paciente (Bonilla et al. 2005), podendo também variar consideravelmente entre indivíduos e entre os diferentes sorotipos testados em uma mesma pessoa (Paris e Sorensen, 2007). Neste sentido, diferentes estudos na literatura mostraram o polissacarídeo 3 como um antígeno imunodominante e os antígenos polissacárides 6B e 23F como imunógenos pobres (Go et al. 1996; Hidalgo et al. 1996; Konradsen et al. 1996; Uddin et al. 2006). No presente estudo, entretanto, o antígeno capsular 14 foi imunodominante em ambos os grupos de pacientes, ao passo que os antígenos polissacárides 4 (grupo não-IS) e 19F (grupo IS) foram os menos imunogênicos.

Com relação à quantificação dos anticorpos anti-pneumococo, mais comumente realizada por ELISA ou ensaio multiplex, diferentes cortes são usados na literatura como indicativos de proteção imunológica, variando desde valores < 1 $\mu\text{g/mL}$ até $= 2$ $\mu\text{g/mL}$. No entanto, o valor de 1,3 $\mu\text{g/mL}$ tem sido utilizado como corte pela maioria dos estudos, sendo inclusive recomendado como tal pela Academia Americana de Alergia, Asma e Imunologia (Orange et al. 2012). Além da obtenção do valor de corte de 1,3 $\mu\text{g/mL}$, especialistas também consideram o incremento de 4x ou mais na concentração basal dos anticorpos anti-pneumococo como sendo sugestivo de resposta adequada à VPP (Bonilla et al. 2005). Ainda de acordo com estes autores, espera-se que os adultos imunizados com a VPP respondam satisfatoriamente para pelo menos 70% dos sorotipos vacinais testados.

Outro aspecto a ser considerado consiste na escassez de estudos que tenham avaliado a resposta humoral à VPP no contexto de níveis pré-vacinais de IgG anti-pneumococo $\geq 1,3$

$\mu\text{g/mL}$ (níveis presumivelmente protetores), condição não rara em adultos sem imunização prévia contra o *Streptococcus pneumoniae* (devido à infecção pregressa pelo pneumococo) (Orange et al. 2012) e observada em quase um terço dos sorotipos testados no presente estudo. Com base neste cenário, Hare et al. (2009) analisaram as respostas imunológicas de 579 pacientes (93% adultos) imunizados com a VPP23 e descobriram que as taxas de quadruplicação por sorotipo variaram de 10-40% (concentração basal de anticorpo anti-pneumococo necessariamente $\geq 1,3 \mu\text{g/mL}$), tendendo a zero para concentrações pré-vacinais entre 4,4 e 10,3 $\mu\text{g/mL}$.

Em relação aos estudos prospectivos que avaliaram a imunogenicidade da VPP em adultos com LES, Klippel et al. (1979) publicaram o primeiro trabalho relacionado ao tema, onde 40 pacientes foram aleatoriamente randomizados (1:1) para receber injeção da VPP 14-valente (VPP14) ou placebo. A população de pacientes tinha média de idade de 32 anos (14-61 anos), predomínio do sexo feminino e doença controlada. Nenhum dos participantes recebia tratamento com citotóxicos à época da vacinação, ao passo que 31 (77,5%) usavam corticosteróide (sem informação de dose), 17 (42,5%) utilizavam antimalárico e 5 (12,5%) não recebiam medicamentos para o lúpus. Após um mês da intervenção, verificou-se que aqueles imunizados apresentaram aumento significativo da concentração geométrica média de anticorpos para cada um dos 12 sorotipos do pneumococo testados. Dependendo do sorotipo avaliado, as respostas de duplicação e de quadruplicação (sobre as concentrações basais de anticorpos) foram respectivamente alcançadas por 55-100% (versus 46,4-84,6% no presente estudo) e por 20-90% dos pacientes imunizados (versus 25-73% no presente estudo), não sendo possível desconsiderar o fato de que a não utilização de imunossupressores possa ter contribuído para a obtenção de taxas de resposta predominantemente favoráveis entre os pacientes do estudo conduzido por Klippel e colaboradores (1979). Ainda de acordo com estes autores, a vacinação não se associou à piora da atividade do lúpus, o que também não ocorreu no presente estudo.

Subsequentemente, Jarrett et al. (1980) examinaram a imunogenicidade da VPP14 em 38 pacientes com LES e 17 voluntários saudáveis. A população de pacientes era composta majoritariamente por mulheres, tinha idade média de 33 anos e atividade de doença leve ou ausente. À época da imunização, nove indivíduos utilizavam PDN + AZA (doses médias de 20 mg/dia e 77,8 mg/dia, respectivamente), 16 usavam < 20 mg/dia de PDN (dose média de 6,7 mg/dia), incluindo 5 sem tratamento para o lúpus, enquanto 13 receberam ≥ 20 mg/dia de PDN (dose média de 28,7 mg/dia). Após um mês da vacinação, não houve diferença significativa de resposta entre os três grupos de tratamento com relação à concentração média dos anticorpos

anti-pneumococo. Entretanto, considerando os 5 pacientes sem terapia específica para o lúpus como um grupo separado, observou-se que a concentração média dos anticorpos anti-pneumococo neste grupo foi significativamente maior do que a obtida pelos grupos recebendo ≥ 20 mg/dia de PDN e PDN + AZA, desta forma sugerindo um possível efeito deletério de doses elevadas de PDN (≥ 20 mg/dia) sobre a imunogenicidade da VPP. No presente estudo, por sua vez, acredita-se que tal interferência possa não ter ocorrido à medida que a mediana da dose diária de prednisona foi baixa (≤ 5 mg) em ambos os grupos de pacientes. Ainda, três dos 38 pacientes imunizados por Jarrett et al. (1980) apresentaram exacerbação grave do lúpus até 12 semanas após a vacinação anti-pneumocócica, com 2 destes evoluindo para o óbito. De 23 pacientes com LES que recusaram a vacina (grupo controle), dois manifestaram recidiva grave e um faleceu por meningite pneumocócica durante o mesmo período de observação, não havendo portanto diferenças significativas relacionadas à segurança vacinal.

Mais tarde, Lipnick et al. (1985) investigaram o impacto da terapia imunossupressora para o lúpus sobre a imunogenicidade da VPP14. Setenta e sete pacientes foram incluídos (idade média: 36 anos; variação: 9-71 anos), sendo a maioria do sexo feminino (94,8%). À época da imunização, sete pacientes (9,1%) possuíam atividade de doença moderada a grave. Em relação à terapêutica de base, 24 usavam PDN em regime diário (dose média: 16 mg/dia) e 27 em dias alternados (dose média: 14 mg/dia), 5 utilizavam CFM oral (dose ≤ 4 mg/kg/dia), 9 CFM oral + AZA (50 mg/dia cada), 3 AZA (dose ≤ 4 mg/kg/dia) e 9 não recebiam tratamento para o lúpus. O tempo mediano de uso dos citotóxicos foi de 29 meses. De acordo com o protocolo, os pacientes tratados com citotóxicos ($n = 17$) e sem citotóxicos ($n = 60$) foram randomizados para receber injeção intramuscular de vacina ou placebo. Não houve diferença significativa na concentração total dos anticorpos anti-pneumococo entre os imunizados em tratamento com ($n = 8$) e sem citotóxicos ($n = 30$) após 1 e 6 meses das intervenções. Como ressalva, não foi informado a dose de PDN em ambos os grupos de pacientes.

Em seguida, Battafarano et al. (1998) analisaram as respostas humorais de 73 pacientes com LES concomitantemente imunizados com 3 vacinas, a saber: toxóide tetânico, vacina conjugada anti-*Haemophilus influenzae* tipo B e VPP23. A população do estudo era constituída principalmente por mulheres (94,5%) e possuía idade média de 43 anos (variação: 18-76 anos). Em relação ao tratamento do lúpus, 35 pacientes (48%) utilizavam agente antimalárico, 54 (74%) PDN (predominantemente < 10 mg/dia), 7 (10%) AZA, 7 (10%) CFM e 1 (1%) MTX. Após 12 semanas do início do estudo, não se encontrou diferença significativa no percentual de respondedores para cada uma das vacinas administradas. No que diz respeito à vacinação anti-pneumocócica, as respostas de duplicação e de quadruplicação da concentração basal dos

anticorpos anti-pneumococo foram alcançadas por 74% e 47% dos pacientes, respectivamente. Nenhum dos participantes evoluiu com exacerbação do lúpus após as imunizações. Entretanto, não foi possível avaliar o efeito da terapia imunossupressora sobre a imunogenicidade da VPP23 pelo fato dos autores terem verificado apenas a resposta humoral conjunta às três vacinas administradas.

Em 2002, Tarján et al. (2002) publicaram trabalho com 18 pacientes com LES e 9 controles saudáveis cujo objetivo principal era estudar as possíveis alterações imunológicas nas quatro primeiras semanas seguintes à vacinação anti-pneumocócica polissacarídica. A média de idade dos pacientes era de 43 anos (variação: 25-66 anos) versus 34 anos entre os controles (variação: 22-50 anos), a duração média dos sintomas de 9 anos (variação: 1-20 anos), a pontuação basal no SLEDAI de 5,5 (variação: 0-18 pontos) e a dose média de prednisolona de 5,9 mg/dia (variação: 0-20 mg/dia). Apenas dois pacientes usavam imunossupressores (ambos AZA). Nenhum participante evoluiu com exacerbação do lúpus até 4 semanas da vacinação. Seis pacientes e seis controles tiveram dosados os níveis séricos dos anticorpos IgM e IgG contra os sorotipos 6B e 23F. Em virtude da amostragem limitada, os autores não puderam realizar a análise estatística das respostas vacinais.

Também em 2002, Elkayam et al. (2002) avaliaram a imunogenicidade da VPP23 em 24 pacientes com LES, 42 com AR e 20 controles saudáveis. Os pacientes com LES eram significativamente mais jovens do que os membros dos demais grupos (idade média: 39 anos; variação: 23-58 anos), predominantemente do gênero feminino (83%) e com tempo médio de doença de 6,9 anos (variação: 1-20 anos). Quanto às medicações para o tratamento do lúpus, 16 pacientes (66,7%) utilizavam antimalárico, 15 (62,4%) usavam PDN (geralmente ≤ 10 mg/dia), 4 (16,7%) recebiam MTX (dose média: 14,2 mg/semana; variação: 7,5-45 mg/semana), 4 (16,7%) AZA e 1 (4,2%) CFM. Após um mês da vacinação, ambos os grupos de pacientes apresentaram aumento significativo da concentração geométrica média dos anticorpos anti-pneumococo para cada um dos sete sorotipos testados. Com relação às taxas de resposta, então definida como a ocorrência de duplicação da concentração basal dos anticorpos anti-pneumococo ou como o aumento do nível sérico dos anticorpos anti-pneumococo em ≥ 1 $\mu\text{g/mL}$, estas foram alcançadas por 36-86% dos pacientes com LES. Cinco dos 24 pacientes (20,8%) com LES responderam a no máximo um sorotipo do pneumococo, não se identificando qualquer fator preditor de má resposta vacinal. A imunização anti-pneumocócica não alterou a atividade do lúpus medida pelo índice SLEDAI.

Por último, 35 mulheres com LES (idade média: 42 anos; variação: 17-80 anos) receberam uma dose da VPP23, das quais 29 (82,8%) usavam prednisolona (geralmente < 10

mg/dia), 13 (37,1%) utilizavam antimalárico, 4 (11,4%) encontravam-se sob pulsoterapia venosa com CFM (doses: 500-800 mg) e 6 (17,1%) estavam sem tratamento para o lúpus (Pisoni et al. 2003). Após 12 semanas da imunização, houve um aumento significativo na concentração média dos anticorpos anti-pneumococo, sendo que 30 pacientes (85,7%) conseguiram duplicar a concentração basal dos anticorpos anti-pneumococo. À semelhança dos demais estudos, também não ocorreu exacerbação do lúpus no referido período de observação.

Em suma, poucos foram os trabalhos que avaliaram a resposta humoral à VPP em adultos com LES sob imunossupressão terapêutica, nenhum deles estando em plena conformidade com os critérios mais amplamente aceitos para avaliação da resposta humoral à vacinação anti-pneumocócica polissacarídica. No presente estudo de imunogenicidade da VPP, até então o que incluiu o maior número de pacientes adultos com LES sob imunossupressão terapêutica, observamos que a resposta vacinal foi inadequada em ambos os grupos de pacientes, principalmente naqueles sob imunossupressão terapêutica. Face aos nossos resultados e aos demais aqui apresentados envolvendo pacientes com LES, pode-se sugerir que a resposta humoral evocada pela VPP seja ruim nesta população de pacientes suscetíveis às infecções pneumocócicas, ensejando dessa forma novas estratégias de imunização contra o pneumococo.

CONCLUSÕES

- Os pacientes adultos com LES sob imunossupressão terapêutica apresentaram resposta vacinal inadequada à VPP23 (aproximadamente 1/3 de respondedores pelo critério de soroconversão e 1/4 pelo critério de quadruplicação).
- As taxas de resposta à VPP23 foram inferiores no grupo de pacientes adultos com LES sob imunossupressão terapêutica versus sem imunossupressão terapêutica, porém com significância estatística apenas no que diz respeito à razão de aumento da concentração dos anticorpos IgG anti-pneumococo.
- A VPP23 não resultou em piora da atividade do lúpus e nem em efeitos adversos sérios em ambos os grupos de pacientes até 4-6 semanas da imunização.

REFERÊNCIAS

- 1) Aikawa NE, Campos LM, Silva CA, Carvalho JF, Saad CG, Trudes G, et al. Glucocorticoid: major factor for reduced immunogenicity of 2009 influenza A (H1N1) vaccine in patients with juvenile autoimmune rheumatic disease. *J Rheumatol*. 2012;39(1):167–173.
- 2) Alarcón GS. Infections in systemic connective tissue diseases: Systemic lupus erythematosus, scleroderma, and polymyositis/dermatomyositis. *Infect Dis Clin North Am*. 2006;20(4):849-75.
- 3) Barcellos LF, May SL, Ramsay PP, et al. High-density SNP screening of the major histocompatibility complex in systemic lupus erythematosus demonstrates strong evidence for independent susceptibility regions. *PLoS Genet*. 2009;5(10):e1000696.
- 4) Battafarano DF, Battafarano NJ, Larsen L, et al. Antigen-specific antibody responses in lupus patients following immunization. *Arthritis Rheum* 1998;41:1828–34.
- 5) Bermas BL, Petri M, Goldman D et al. T helper cell dysfunction in systemic lupus erythematosus (SLE): Relation to disease activity. *J Clin Immunol*. 1994;14(3):169-77.
- 6) Bernatsky S, Boivin JF, Joseph L, Manzi S, Ginzler E, Gladman DD et al. Mortality in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54(8):2550-7.
- 7) Bertias G, Cervera R, Boumpas DT. Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features. In: Johannes WJ Bijlsma. *EULAR Textbook on Rheumatic Diseases*. London: BMJ Group; 2012.
- 8) Bingham CO 3rd, Looney RJ, Deodhar A et al. Immunization responses in rheumatoid arthritis patients treated with rituximab: results from a controlled clinical trial. *Arthritis Rheum* 2010;62:64-74.
- 9) Bonilla FA, Bernstein IL, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005;94(5 suppl 1):S1-63.
- 10) Borba EF, Ribeiro AC, Martin P, Costa LP, Guedes LK, Bonfa E. Incidence, risk factors, and outcomes of herpes zoster in systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheum*. 2010;16:119–22.
- 11) Brenol CV, Mota LCH, Cruz BA, Pileggi GS, Pereira IA, Rezende LS, et al. Consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia sobre vacinação em pacientes com artrite reumatoide. *Rev Bras Reumatol*. 2013;53(1):4-23.
- 12) Buyon JP, Petri MA, Kim MY, et al. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2005;142:953–62.

- 13) Centers for Disease Control and Prevention. Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine for adults with immunocompromising conditions: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;61:816–9 .
- 14) Cervera R, Khamashta MA, Font J et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period. A comparison of early and late manifestations in a cohort of 1000 patients. *Medicine (Baltimore)* 2003;82(5):299-308.
- 15) Chatham WW, Wallace DJ, Stohl W, Latinis KM, Manzi S, McCune WJ et al. (2012) Effect of belimumab on vaccine antigen antibodies to influenza, pneumococcal, and tetanus vaccines in patients with systemic lupus erythematosus in the BLISS-76 trial. *J Rheumatol* 2012;39(8):1632-40.
- 16) Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL et al. Risk factors for development of systemic lupus erythematosus: allergies, infections, and family history. *J Clin Epidemiol.* 2002;55:982-9.
- 17) Cronin ME, Balow JE, Tsokos GC. Immunoglobulin deficiency in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 1989;7(4):359-64.
- 18) Danza A, Ruiz-Irastorza G. Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies. *Lupus.* 2013 Oct;22(12):1286-94.
- 19) de Roux A, Schmoele-Thoma B, Siber GR, et al. Comparison of pneumococcal conjugate polysaccharide and free polysaccharide vaccines in elderly adults: conjugate vaccine elicits improved antibacterial immune responses and immunological memory. *Clin Infect Dis* 2008;46:1015-23.
- 20) Duffy KN, Duffy CM, Gladman DD. Infection and disease activity in systemic lupus erythematosus: a review of hospitalized patients. *J Rheumatol.* 1991;18(8):1180-84.
- 21) Elkayam O, Paran D, Caspi D, et al. Immunogenicity and safety of pneumococcal vaccination in patients with rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus. *Clin Infect Dis* 2002;34:147–53.
- 22) García Tello A, Villegas Martínez A, Gonzáles Fernández AF et al. Hematological abnormalities in patients with systemic lupus erythematosus [in Spanish]. *An Med Interna.* 2002;19(10):539-43.
- 23) Gelinck LB, van der Bijl AE, Visser LG et al. Synergistic immunosuppressive effect of anti-TNF combined with methotrexate on antibody responses to the 23 valent pneumococcal polysaccharide vaccine. *Vaccine* 2008;26:3528-33.
- 24) Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 2002;29(2):288–91.
- 25) Go ES, Ballas ZK. Anti-pneumococcal antibody response in normal subjects: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:205-15.

- 26) Hahn BH, Ebling F, Singh RR et al. Cellular and molecular mechanisms of regulation of autoantibody production in lupus. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1051:433-41.
- 27) Hare ND, Smith BJ, Ballas ZK. Antibody response to pneumococcal vaccination as a function of preimmunization titer. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:195-200.
- 28) Hidalgo H, Moore C, Leiva L. Preimmunization and postimmunization pneumococcal antibody titers in children with recurrent infections. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;76:341-6.
- 29) Ho A, Barr SG, Magder LS, Petri M. A decrease in complement is associated with increased renal and hematologic activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001;44(10):2350-57.
- 30) Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1725.
- 31) Hsieh SC, Tsai CY, Sun KH et al. Decreased spontaneous and lipopolysaccharide stimulated production of interleukin 8 by polymorphonuclear neutrophils of patients with active systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 1994;12(6):627-33.
- 32) James JA, Harley JB, Scofield RH. Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2006 Sep;18(5):462-7.
- 33) Jarrett MP, Schiffman G, Barland P, et al. Impaired response to pneumococcal vaccine in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1980;23:1287– 93.
- 34) Kapetanovic MC, Saxne T, Sjöholm A et al. Influence of methotrexate, TNF blockers and prednisolone on antibody responses to pneumococcal polysaccharide vaccine in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:106-11.
- 35) Klippel JH, Karsh J, Stahl NI, et al. A controlled study of pneumococcal polysaccharide vaccine in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1979; 22:1321–5.
- 36) Klumb EM, Pinto AC, Jesus GR, Araujo M, Jr, Jascione L, Gayer CR, et al. Are women with lupus at higher risk of HPV infection. *Lupus.* 2010;19(13):1485–91.
- 37) Konradsen HB. Humoral immune response to pneumococcal vaccination. Prevention of infections with *Streptococcus pneumoniae* by immunization. *APMIS Suppl* 1996;60:1-28.
- 38) Lehmann P, Hölzle E, Kind P, Goerz G, Plewig G. Experimental reproduction of skin lesions in lupus erythematosus by UVA and UVB radiation. *J Am Acad Dermatol.* 1990;22(2 Pt 1):181–7.
- 39) Lipnick RN, Karsh J, Stahl NI, et al. Pneumococcal immunization in patients with systemic lupus erythematosus treated with immunosuppressives. *J Rheumatol* 1985;12:1118–21.

- 40) Merrell M, Shulman LE. Determination of prognosis in chronic disease, illustrated by systemic lupus erythematosus. *J Chron Dis*. 1955;1(1):12-32.
- 41) Musher DM, Rueda AM, Nahm MH, Graviss EA, Rodriguez-Barradas MC. Initial and subsequent response to pneumococcal polysaccharide and protein-conjugate vaccines administered sequentially to adults who have recovered from pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 2008;198:1019-27.
- 42) Nakashima CAK, Galhardo AP, Silva JFM et al. Incidência e aspectos clínico laboratoriais do lúpus eritematoso sistêmico em cidade do Sul do Brasil. *Rev Bras Reumatol* 2011; 51:231-9.
- 43) O'Brien KL, Hochman M, Goldblatt D. Combined schedules of pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccines: is hyporesponsiveness an issue? *Lancet Infect Dis* 2007;7:597-606.
- 44) Orange JS, Ballou M, Stiehm ER, Ballas ZK, Chinen J, De La Morena M, et al. Use and interpretation of diagnostic vaccination in primary immunodeficiency: a working group report of the Basic and Clinical Immunology Interest Section of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* (2012) 130(3 Suppl):S1–24.
- 45) Paris K, Sorensen RU. Assessment and clinical interpretation of polysaccharide antibody responses. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007 Nov;99(5):462-4.
- 46) Petri MA, Genovese M. Incidence of and risk factors for hospitalizations in systemic lupus erythematosus: A prospective study of the Hopkins Lupus Cohort. *J Rheumatol*. 1992;19(10):1559-65.
- 47) Petri M. Infection in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 1998;24(2):423-56.
- 48) Petri M, Kim MY, Kalunian KC, et al. for the OC-SELENA Trial Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2005;353:2550–58.
- 49) Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2012;64(8):2677-86.
- 50) Ruiz-Irastorza G, Olivares N, Ruiz-Arruza I, Martinez-Berriotxo A, Egurbide M-V, Aguirre C. Predictors of major infections in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(4):R109.
- 51) Sánchez-Guerrero J, Liang MH, Karlson EW, et al. Postmenopausal estrogen therapy and the risk for developing systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med*. 1995;122:430–33.

- 52) Sánchez-Guerrero J, Karlson EW, Liang MH, et al. Past use of oral contraceptives and the risk of developing systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:804–08.
- 53) Simard JF, Costenbader KH. Epidemiology and classification of systemic lupus erythematosus. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH. *Rheumatology*. 5. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2011. p. 1223-8.
- 54) Sisó A, Ramos-Casals M, Bové A et al. Previous antimalarial therapy in patients diagnosed with lupus nephritis: Influence on outcomes and survival. *Lupus* 2008;17(4):281-88.
- 55) SBIM. Sociedade Brasileira de Imunizações. 2015.
<http://www.sbim.org.br/publicacoes/guias-de-vacinacao/guia-de-imunizacao-reumatologia-2014-2015/>
- 56) Souza D, Santo A, Sato E. Mortality profile related to systemic lupus erythematosus: A multiple cause-of-death analysis. *J Rheumatol* 2012;39:496-503.
- 57) Steinberg AD. Insights into the basis of systemic lupus. *J Autoimmun* Dec;8(6):771-75.
- 58) Tarján P, Sipka S, Maródi L, et al. No short-term immunological effects of Pneumococcus vaccination in patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 2002;31:211–5.
- 59) Uddin S, Borrow R, Haeneuy M. Total and serotype specific pneumococcal antibody titres in children with normal and abnormal humoral immunity. *Vaccine* 2006;24:5637-44.
- 60) Urowitz MB, Bookman AAM, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* 1976;60(2):221-25.
- 61) van Assen S, Agmon-Levin N, Elkayam O et al. EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2011;70(3):414-22.
- 62) Vasudevan AR, Ginzler EM. Clinical features of systemic lupus erythematosus. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH. *Rheumatology*. 5. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2011. p. 1229-46.
- 63) Vilar MJP, Rodrigues JM, Sato EI. Incidência de lúpus sistêmico em Natal, RN-Brasil. *Rev Bras Reumatol.* 2003;43(6):347-51.
- 64) Wernette CM, Frasc CE, Madore D, Carlone G, Goldblatt D, Plikaytis B, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10:514-9.

APÊNDICE A – Ficha clínica – LES

**FICHA CLÍNICA DO PROJETO SOBRE VACINAÇÃO ANTI-PNEUMOCÓCICA
23-VALENTE EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Nome: _____
 Prontuário: _____
 Telefones de contato: _____
 Data de nascimento: _____

Dados gerais

Sexo: masculino feminino

Raça: branco negro pardo amarelo indígena outra

Tempo com o diagnóstico da doença (meses): _____ Tempo

do início dos sintomas (meses): _____

Crítérios de exclusão do estudo	SIM	NÃO
Gestantes		
Vacinação antipneumocócica nos últimos 5 anos		
História de reação alérgica a qualquer vacina		
Infeção no dia da imunização com febre acima de 38°		
Presença de neoplasia maligna		
Presença de infecção crônica por HBV, HCV ou HIV		
Recebimento de qualquer outra vacina até 1 mês da imunização		
Tratamento com imunoglobulina humana até 3 meses da imunização		
Tratamento com rituximabe até 1 ano da imunização		

Crítérios classificatórios de LES revisados em 1997	Sim	Não
Rash malar		
Rash discoide		
Fotossensibilidade		
Úlceras orais		
Artrite		
Serosite		
Distúrbio renal		
Distúrbio neurológico		
Distúrbio hematológico		
Distúrbio imunológico		
Fator antinuclear		

Medicamentos	Início do uso	Dose atual	Dose cumulativa
Prednisona			
Hidroxicloroquina			
Difosfato de cloroquina			
Azatioprina			
Micofenolato mofetil			
Ciclofosfamida			

Parâmetro laboratorial	Pré-vacina	Pós-vacina
Hemoglobina, g/dL		
Leucometria, mm ³		
Plaquetometria x 10 ⁹ /L		
VHS, mm/h		
PCR, mg/L		
C3, mg/dL		
C4, mg/dL		
CH50, mg/Dl		
Anti-DNA dupla hélice, mg/dL ou título		
Spot urinário proteinúria/creatininúria		
EAS		

Sorotipos	Concentração pré-vacina	Concentração pós-vacina	Razão de aumento
4			
6B			
9V			
14			
18C			
19F			
23F			

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da pesquisa: “Avaliação da resposta sorológica em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico imunizados com a vacina anti-pneumocócica polissacarídica”

Nome do paciente:

Prontuário:

Data de nascimento:

Você está sendo convidado a participar deste projeto de pesquisa cujo objetivo principal é avaliar a sua resposta sorológica à vacina contra pneumonia pneumocócica, assim como a necessidade de realização de dose de reforço da vacina anti-pneumocócica. Para participar, é necessário responder a um questionário e aceitar colher sangue venoso antes da aplicação intramuscular da vacina e também 4 a 6 semanas após esta injeção para que possamos verificar a obtenção ou não de resposta imunizatória satisfatória.

A vacina será fornecida pelo Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) do Ministério da Saúde, sendo aplicada por profissionais de saúde capacitados na própria unidade do CRIE ou no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE). Caso não seja atingida uma resposta imunológica adequada à vacina, poderá ser necessário a aplicação intramuscular de uma dose de reforço desta e, conseqüentemente, uma nova coleta de sangue após 4 a 6 semanas para avaliação da resposta sorológica.

Este estudo será desenvolvido por médicos do HUPE e/ou médicos vinculados à programa de pós-graduação da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). A sua participação não é obrigatória e, em aceitando, poderá sair do estudo em qualquer momento sem que haja qualquer punição ou interferência com o seu tratamento. Os dados obtidos neste projeto poderão ser publicados em revistas científicas sem, obviamente, explicitar a identificação dos participantes da pesquisa.

A sua participação no estudo não acarretará em custos adicionais ao tratamento e nem no pagamento dos exames laboratoriais que serão realizados. Não haverá também qualquer tratamento diferenciado em relação aos demais pacientes pelo fato de você participar da pesquisa. Qualquer dúvida que surja antes, durante ou após o término do estudo, poderá ser esclarecida pelo seu médico-assistente e/ou pelos médicos responsáveis pelo projeto em questão.

Declaro que concordei em participar deste estudo após os esclarecimentos acima:

Nome do paciente:

Assinatura do paciente:

Data da assinatura:

Médico responsável pela apresentação do TCLE:

Nome:

Assinatura

Data da assinatura:

Médicos responsáveis pelo projeto: Dr. Evandro M. Klumb (tel: 2868-8216) e Dr. Rodrigo Poubel Vieira de Rezende (tel: 2868-8083).

Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE (tel: 2868-8253).

Testemunha:

Testemunha:

APÊNDICE C – Índice SLEDAI-2K

(válido para manifestações ocorridas nos 10 dias anteriores à avaliação)		
Convulsão	Início recente. Excluir infecção metabólica ou causas devido ao medicamentoS medicamentos	8
Psicose	Capacidade alterada para função em atividade normal devido a distúrbio severo na percepção da realidade. Inclui alucinação, incoerência, perda marcante de associações, empobrecimento do conteúdo do pensamento, pensamento ilógico marcante, comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico. Excluir uremia e causas devido ao medicamento.	8
Síndrome cerebral	Função mental alterada com orientação prejudicada, memória ou outra função intelectual com início rápido e características clínicas instáveis. Inclui estado alterado da consciência com redução da capacidade de foco e incapacidade de manter a atenção no ambiente mais pelo menos 2 dos seguintes: distúrbio de percepção, fala incoerente, insônia ou sonolência durante o dia ou aumento ou diminuição da atividade psicomotora. Excluir causas devido ao medicamento, infecção ou metabólicas.	8
Distúrbio visual	Alterações retinianas de LES. Incluir corpos citóides, hemorragia retiniana, exsudato seroso ou hemorragia na coróide, ou neurite óptica. Excluir causas devido ao medicamento, infecção ou hipertensão.	8
Distúrbios dos nervos cranianos	Novo começo de neuropatia motora ou sensorial comprometendo nervos cranianos.	8
Cefaleia lúpica	Dor de cabeça severa persistente; pode ser enxaqueca, mas não deve ser responsiva à analgesia narcótica.	8
Acidente vascular cerebral (AVC)	Novo início de acidente(s) vascular(es) cerebral(is). Excluir arteriosclerose.	8
Vasculite	Ulceração, gangrena, nódulos moles dos dedos, infarto periungueal, hemorragia splinter, ou biópsia ou arteriografia de vasculite.	8
Artrite	Mais de 2 articulações com dor e sinais de inflamação (isto é, sensibilidade, inchaço e efusão).	4
Miosite	Músculo proximal dolorido ou fraqueza associada com aldolase ou creatina fosfoquinase elevada, ou alterações de eletromiograma, ou uma biópsia apresentando miosite.	4
Cilindros urinários	Cilindros de hemácias ou heme-granular	4
Hematúria	> 5 hemácias por campo. Excluir cálculo, infecção ou outras causas.	4
Proteinúria	> 0,5 g por 24 horas. Novo início ou aumento recente de mais que 0,5 g por 24 horas.	4
Piúria	>5 leucócitos/campo na ausência de infecção	4
Nova erupção	Novo início ou recorrência de erupção do tipo inflamatório	2
Alopécia	Novo início ou recorrência de perda anormal de cabelo difusa ou em placa	2

(válido para manifestações ocorridas nos 10 dias anteriores à avaliação)		
Úlceras na mucosa	Novo início ou recorrência de ulcerações nasais ou orais	2
Pleurisia	Dor torácica pleurítica com atrito pleural ou efusão ou espessamento pleural	2
Pericardite	Dor pericárdica com pelo menos 1 dos seguintes: efusão de atrito ou confirmação por eletrocardiograma	2
Baixo complemento	Diminuição no CH50, C3 ou C4 abaixo do limite mínimo do normal para exame de laboratório	2
Ligação ao DNA aumentada	ligação > 25 % pelo ensaio de Farr ou acima da faixa normal para exame de laboratório	2
Febre	Temperatura axilar >38°C. Excluir causas infecciosas	1
Trombocitopenia	Plaquetas <100 000/mm ³	1
Leucopenia	Leucócitos <3 000/mm ³ . Excluir causada por medicamento.	1

APÊNDICE D – Artigo submetido para publicação em periódico internacional

**Immunogenicity of pneumococcal polysaccharide vaccine in adult
systemic lupus erythematosus patients undergoing
immunosuppressive treatment**

Rodrigo P. V. Rezende^a, Francinne M. Ribeiro^a, Elisa M.N. Albuquerque^a, Carlos Roberto Gayer^b, Luís Eduardo C. Andrade^c, Evandro M. Klumb^a

^a Rheumatology Department, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

^b Biochemistry Department, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

^c Immunology Medical Advisor, Fleury Medicina Diagnóstica, São Paulo, Brazil

Corresponding author:

Rodrigo Poubel Vieira de Rezende

Address:

Av. Sylvio Picanço, 555, ap 504 II

Charitas, Niterói (RJ), Brasil

CEP 24360-030

Phone: (55) (21) 98491 0800

Emails: ropoubel@yahoo.com.br / rpvrezende@gmail.com

1. INTRODUCTION

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune inflammatory rheumatic disease with distinct phenotypes and degrees of severity. Due to underlying disturbances in both innate and adaptive immune systems and also the use of immunosuppressive drugs, patients with SLE are at increased risk of contracting infections as well as of dying from pulmonary infections when compared with the general population [1].

Currently, pneumococcal vaccination is strongly recommended for patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases, even when being treated with immunosuppressants, by the Centers for Disease Control and Prevention Advisory Committee on Immunization Practices and the European League Against Rheumatism [1,2]. Nevertheless, few studies aimed to assess the immunogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23) when received by SLE patients under therapeutic immunosuppression [3-7]. Moreover, different immunogenicity criteria were used across these studies, thus limiting generalization of the results.

Given these facts, we conducted a prospective open-label study with the purpose of evaluating the immunogenicity of PPSV23 among adult SLE patients under therapeutic immunosuppression by the use of currently recommended criteria for humoral immunogenicity assessment [8].

2. PATIENTS AND METHODS

From February 2013 to April 2014, we selected sequentially SLE patients who had routine scheduled visits at Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) and fulfilled requirements for inclusion in one of two treatment groups (i.e with and without immunosuppressors). Patients classified as under therapeutic immunosuppression (IS group) had to be receiving continuously cyclophosphamide (CYC), azathioprine (AZA)

or mycophenolate mofetil (MMF) for ≥ 6 months before vaccination, and prednisone at any dose. Patients deemed not to be under therapeutic immunosuppression (non-IS group) could not have used any immunosuppressant nor > 5 mg/day of prednisone also for ≥ 6 months before pneumococcal immunization. All patients were ≥ 18 years, fulfilled the 1997 American College of Rheumatology revised criteria for the classification of SLE [9], and signed a consent form previously approved by the university hospital ethics committee (number 190.614). Exclusion criteria were: pregnancy; history of vaccine allergy; current infection; receipt of any pneumococcal vaccine within 5 years, intravenous immunoglobulin within 3 months and rituximab within 1 year.

Vaccination protocol

Clinical and laboratory data were collected immediately before vaccination and 4-6 weeks thereafter. Each participant received an intramuscular dose (= 0.5 mL) of PPSV23 (Pneumovax 23, MSD), which contains 25 μg of each of 23 pneumococcal capsular polysaccharides. Levels of specific immunoglobulin G (IgG) antibody against seven pneumococcal serotypes (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, and 23F) were determined by use of World Health Organization standard enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [10], which included absorption of patients' serum samples with polysaccharide C and serotype 22F to eliminate non-specific cross-reactive antibodies. Pre- and post-immunization samples from each patient were simultaneously assayed at Fleury laboratory, São Paulo, Brazil. The lower and upper limits of quantitation for this assay were 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Values below and above these cutoffs were regarded as 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 20.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Other laboratory tests performed were: complete blood cell count, serum creatinine, C3 and C4 levels, IgA, IgM and IgG values, anti-double stranded DNA (anti-dsDNA) by

immunofluorescence, urinalysis and random urine protein:creatinine ratio. Disease activity at vaccination and 4-6 weeks thereafter was assessed by Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K) [11].

Immunogenicity outcome measures

The main objective of the current study was to determine the percentage of SLE patients under therapeutic immunosuppression who achieved successful immune response to PPSV23 according to current recommendations [8]. Accordingly, adequate humoral response was defined as a post-immunization anti-pneumococcal IgG concentration \geq 4-fold over baseline or \geq 1.3 $\mu\text{g/mL}$ (applicable for serotypes whose antibody values were $<$ 1.3 $\mu\text{g/mL}$ before vaccination, i.e. seroconversion), and as the development of adequate antibody responses to \geq 70% of tested serotypes. The secondary study objectives were to assess the mean ratio of post- to pre-immunization anti-pneumococcal antibody concentrations and the safety of the vaccine.

Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) for normally distributed data and as median \pm range for skewed data. Differences between treatment groups were analyzed using unpaired t-test, Mann-Whitney U test, or chi-square test, as appropriate. Within-group differences were compared by paired t-test or Wilcoxon signed-rank test, as appropriate. $P < 0.05$ was considered statistically significant. Data were analyzed using the STATISTICA software, version 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

3. RESULTS

Out of 68 lupus patients immunized with PPSV23, 12 (17.6%) missed return visit and 2 (2.9%) were started on immunosuppressive drugs, thus being excluded. Among the

54 (79.4%) patients who completed the study, 28 were undergoing immunosuppressive treatment (IS group) and 26 were not (non-IS group) (Tables 1 and 2). Gender as well as disease duration were not significantly different between treatment groups at inclusion, whereas patients in IS group were younger and more often used systemic steroids (also at higher dosage), having no difference between the groups on the percentage of patients on hydroxychloroquine. MMF was the most used immunosuppressant in the 6-month period prior to pneumococcal immunization, followed by CYC and AZA. Four subjects received more than one immunosuppressant within this interval. The study groups were comparable at baseline for serum levels of creatinine, IgA and IgM. Both groups were not different for the mean number of serotypes (per patient) with protective anti-pneumococcal antibody levels (i.e. ≥ 1.3 $\mu\text{g/mL}$) before vaccination. At baseline, the IS group presented lower mean IgG concentration (though within the limits of normality) and higher disease activity as measured by SLEDAI-2K.

Primary study objectives

Vaccine responses for each pneumococcal serotype are summarized in table 3. Seroconversion response rates ranged from 43.7% to 77.7% in IS group and from 52.3% to 90% in non-IS group and were not statistically different between them. Four-fold response rates over baseline anti-pneumococcal levels ranged, respectively, from 25% to 57.1% and from 38.4% to 73% for IS and non-IS patients, with no significant differences between the groups.

In reference to the proportion of SLE patients who obtained adequate vaccine response to $\geq 70\%$ of tested serotypes, 38.8% achieved seroconversion and 29.6% a ≥ 4 -fold response, with no significant differences between the groups' proportions ($p = 0.62$ and $p = 0.44$, respectively; table 4).

Secondary study objectives

Serotype-specific pre-vaccination anti-pneumococcal concentrations were similar across the two groups and all significantly increased following immunization (table 5). However, the mean [\pm SD] ratio of post- to pre-immunization anti-pneumococcal antibody concentrations was higher among patients in non-IS group (6.4 [\pm 2.3] versus 4.7 [\pm 2.4] in IS group; $p = 0.001$, unpaired t-test), as well as the antibody levels against two of the serotypes tested (table 5).

Few patients experienced side effects of PPSV23, all being mild, transitory and limited to injection site. Following vaccination, only one patient (IS group) had anti-dsDNA measurement turned from negative to positive. Baseline median SLEDAI-2K score remained unchanged in both groups.

4. DISCUSSION

In the present work, we have shown that antibody responses to pneumococcal polysaccharide vaccination were overall lower among SLE patients undergoing immunosuppressive treatment, with the vaccine being insufficiently immunogenic even among those not under immunosuppressive therapy. In fact, previous studies in other autoimmune rheumatic diseases have already demonstrated a reduced immunogenicity of PPSV in association with corticosteroids and other immunomodulators, particularly methotrexate and rituximab [12-14]. In our study, however, distinct immunosuppressants were used and the median prednisone dose was low in both patients' groups, therefore suggesting that systemic steroids might not have influenced the results. Also, we have not observed any short-term serious adverse effect or disease flare-up following pneumococcal polysaccharide vaccination, which is in accordance with a recent literature review [15].

Nevertheless, making an adequate interpretation of humoral immune responses to pneumococcal polysaccharide antigens is not simple as there is no solid definition of what would be a normal serologic response for healthy individuals of different age groups, as evidenced in a recent report by the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology [16]. Various factors do contribute to the difficulty in interpreting such responses. Depending on the immunoassay used (ELISA or multiplex) and also on the commercial laboratory, different cutoff values have been used as indicative of protection, ranging from titers lower than 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ or as high as 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [16]. Protective antibody levels might also differ depending on the age of the individual and on the pneumococcal serotype being tested [17]. Further, pneumococcal capsular serotypes can vary in their antigenicity, therefore making it difficult to take responses as representative of protection when few serotypes are assessed [16].

Another issue complicating interpretation of serologic responses, particularly the fold rise in antibody levels, is the paucity of studies when the pre-immunization anti-pneumococcal IgG concentration is already $\geq 1.3 \mu\text{g}/\text{mL}$, condition not uncommon in unvaccinated persons due to previous pneumococcal infections [16] and found in almost one-third of the serotypes tested in our study population. In this setting, a large retrospective study with 579 subjects (93% adults) immunized with PPSV23 showed that, per serotype, ≥ 4 -fold responses over baseline levels $\geq 1.3 \mu\text{g}/\text{mL}$ were unlikely obtained (odds close to zero) with pre-immunization anti-pneumococcal concentrations ranging from 4.4 to 10.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [18].

Of the prospective studies in adult patients with SLE which have evaluated the effect of immunosuppressive treatment on the immunogenicity of PPSV, the first one had 38 patients enrolled [3], with 16 receiving $< 20 \text{ mg}/\text{day}$ of prednisone (mean = 6.7 mg/day), 13 with $\geq 20 \text{ mg}/\text{day}$ of prednisone (mean = 28.7 mg/day) and 9 with prednisone +

azathioprine (mean = 20 mg/day and 77.8 mg/day, respectively). At one month post-immunization, there were no differences in mean anti-pneumococcal antibody levels between the three groups. However, the five drug-free patients included in the group receiving < 20 mg/day of prednisone were shown to have a much better humoral immune response than those taking \geq 20 mg/day of prednisone as well as on combined therapy, then shedding light on the potential deleterious role of systemic steroids on the immunogenicity of PPSV. In this respect, prednisone use (mean dose = 17.4 mg/day) was considered the major factor associated with reduced immunogenicity of influenza A H1N1/2009 vaccine in a large cohort of pediatric patients with rheumatic diseases [19]. Corticosteroids were also associated with a rapid loss of serologic response in a study of immune-mediated inflammatory disorders, which included 13 adult patients with SLE under immunosuppressive therapy [4]. In our study, the non-IS group had the prednisone dose cautiously limited to 5 mg/day as an attempt to attenuate its effect on antibody responses to PPSV since we intended to study the effect of regularly used immunosuppressors on the humoral immune response.

In another study with 77 SLE patients, of whom 17 used cytotoxics, mean antibody levels elicited by PPSV were similar between non-cytotoxic-treated and cytotoxic-treated patients [5]. Of note, no information was available on the prednisone dose of each group. Afterwards, 73 SLE patients were concomitantly immunized with PPSV23, tetanus toxoid, and *Haemophilus influenza* type B vaccine, of whom 15 had been receiving immunosuppressants and 54 prednisone (mostly < 10 mg/day) [6]. Two-, three- and four-fold responses to PPSV23 were obtained by 74%, 59% and 47% of patients, respectively. The authors, however, assessed the impact of medications on the vaccine immunogenicity by the mean number of responses (for each fold response) to the three vaccines.

Lastly, out of 24 SLE patients vaccinated with PPSV, immune responses were achieved by 36-86%, then defined as a 2-fold increase in serotype-specific antibody levels or an absolute change in specific antibody of 1 µg/mL [7]. Most patients had been taking prednisone (mainly \leq 10 mg/day) and only 9 were treated with immunosuppressants. No association was found between non-responders and any of the immunosuppressive drugs used.

In conclusion, we have shown that antibody responses to PPSV, besides being suboptimal, might also be impaired by common cytotoxic drugs for lupus management. Studies on new vaccination strategies (e.g. priming with pneumococcal conjugate vaccine) are therefore needed in order to enhance immunogenicity of pneumococcal vaccination in patients with SLE. Whenever possible, pneumococcal immunization should take place before treatment initiation.

References

- 1) van Assen S, Agmon-Levin N, Elkayam O, et al. EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(3):414–22.
- 2) Centers for Disease Control and Prevention. Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine for adults with immunocompromising conditions: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;61(40):816–9.
- 3) Jarrett MP, Schiffman G, Barland P, Grayzel AI. Impaired response to pneumococcal vaccine in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1980;23(11):1287–93.

- 4) Fischer L, Gerstel PF, Poncet A, et al. Pneumococcal polysaccharide vaccination in adults undergoing treatment for inflammatory diseases – a longitudinal study. *Arthritis Res Ther*. 2015;17(6):151.
- 5) Lipnick RN, Karsh J, Stahl NI, Blackwelder WC, Schiffman G, Klippel JH. Pneumococcal immunization in patients with systemic lupus erythematosus treated with immunosuppressives. *J Rheumatol*. 1985;12(6):1118–21.
- 6) Battafarano DF, Battafarano NJ, Larsen L, et al. Antigen-specific antibody responses in lupus patients following immunization. *Arthritis Rheum*. 1998;41(10):1828–34.
- 7) Elkayam O, Paran D, Caspi D, et al. Immunogenicity and safety of pneumococcal vaccination in patients with rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus. *Clin Infect Dis*. 2002;34(2):147–53.
- 8) Bonilla FA, Bernstein IL, Khan DA, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005;94(suppl 1):S1–63.
- 9) Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatology*. 1997;40(9):1725.
- 10) Wernette CM, Frasch CE, Madore D, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10:514-9.
- 11) Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002;29(2):288–91.
- 12) Kapetanovic MC, Saxne T, Sjöholm A et al. Influence of methotrexate, TNF blockers and prednisolone on antibody responses to pneumococcal

- polysaccharide vaccine in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(1):106-11.
- 13) Gelinck LB, van der Bijl AE, Visser LG, et al. Synergistic immunosuppressive effect of anti-TNF combined with methotrexate on antibody responses to the 23 valent pneumococcal polysaccharide vaccine. *Vaccine*. 2008;26:3528-33.
- 14) Bingham CO 3rd, Looney RJ, Deodhar A, et al. Immunization responses in rheumatoid arthritis patients treated with rituximab: results from a controlled clinical trial. *Arthritis Rheum*. 2010;62(1):64-74.
- 15) Buhler S, Eperon G, Ribi C, et al. Vaccination recommendations for adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Swiss Med Wkly*. 2015;145:w14159.
- 16) Orange JS, Ballou M, Stiehm ER, et al. Use and interpretation of diagnostic vaccination in primary immunodeficiency: a working group report of the Basic and Clinical Immunology Interest Section of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Sep;130(3 Suppl):S1-24.
- 17) Paris K, Sorensen R. Assessment and clinical interpretation of polysaccharide antibody responses. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007;99(5):462-4.
- 18) Hare ND, Smith BJ, Ballas ZK. Antibody response to pneumococcal vaccination as a function of pre-immunization titer. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(1):195-200.
- 19) Aikawa NE, Campos LM, Silva CA, et al. Glucocorticoid: major factor for reduced immunogenicity of 2009 influenza A (H1N1) vaccine in patients with juvenile autoimmune rheumatic disease. *J Rheumatol*. 2012;39(1):167-73.

Table 1. Demographic and disease characteristics at inclusion (n = 54)

	IS group (n = 28)	non-IS group ^a (n = 26)	P
Women, n (%)	26 (92.8)	23 (88.4)	0.57
Age, mean ± SD, years	35.5 ± 9.4	43.3 ± 11.7	< 0.01
Disease duration, mean ± SD, years	9.1 ± 7.2	12.1 ± 6.2	0.11
Creatinine, mean ± SD, mg/dL	0.90 ± 0.28	0.89 ± 0.16	0.96
IgA, mean ± SD, mg/dL ^b	348.1 ± 127.6	324.3 ± 134.6	0.52
IgM, mean ± SD, mg/dL ^c	110.5 ± 59.2	108.4 ± 52.8	0.89
IgG, mean ± SD, mg/dL ^d	1554.9 ± 445.6	1930.8 ± 491.8	< 0.01
SLEDAI-2K score, median (range) ^e	4 (0-15)	0 (0-6)	0.02
Number of tested serotypes per patient with baseline anti-pneumococcal antibody level ≥ 1.3 µg/mL, mean ± SD	1.89 ± 1.59	2.53 ± 2.0	0.19

^a Three patients had missing values for all immunoglobulins and 5 for SLEDAI-2K score; ^b Reference range = 70-400 mg/dL; ^c Reference range = 60-350 mg/dL; ^d Reference range = 650-1600 mg/dL; ^e Range: 0-105 points; IS group = under therapeutic immunosuppression; non-IS group = not under therapeutic immunosuppression; SD = standard deviation. P values were determined by Mann-Whitney U test, unpaired t-test or chi-square test, as appropriate.

Table 2. Treatment characteristics (n = 54) at inclusion

	IS group (n = 28)	non-IS group (n = 26)	P
Hydroxychloroquine, n (%)	23 (82.1)	22 (84.6)	0.80
PDN, n (%)	28 (100)	20 (76.9)	0.02
Median dose (range), mg/day	5 (2.1-20)	4.5 (1.2-5)	0.01
MMF, n (%)	12 (42.8)	NA	NA
Median dose (range), g/day	2 (1-3)	NA	NA
CYC, n (%)	6 (21.4)	NA	NA
Median cumulative dose (range), g	5.5 (3.6-11.4)	NA	NA
AZA, n (%)	6 (21.4)	NA	NA
Median dose (range), mg/day	100 (75-200)	NA	NA
CYC → MMF, n (%) ^a	3 (10.7)	NA	NA
Mean CYC cumulative dose ± SD, g	6.2 ± 1.5	NA	NA
Mean MMF dose ± SD, g/day	2.6 ± 0.7	NA	NA
CYC → AZA, n (%) ^a	1 (3.5)	NA	NA
CYC cumulative dose, g	8.8	NA	NA
AZA dose, mg/day	150	NA	NA

^a Means shifting to; IS group = under therapeutic immunosuppression; non-IS group = not under therapeutic immunosuppression; SD = standard deviation; PDN = prednisone; MMF = mycophenolate mofetil; CYC = cyclophosphamide; AZA = azathioprine; NA = not applicable. P values were determined by chi-square test and Mann-Whitney U test, as appropriate.

Table 3. Serotype-specific response rates

Serotype	Seroconversion response rates ^a			≥ 4-fold response rates over baseline antibody levels ^b		
	IS group (n = 28)	non-IS group (n = 26)	P	IS group (n = 28)	non-IS group (n = 26)	P
4	14/28 (50)	12/20 (60)	0.49	11/28 (39.2)	13/26 (50)	0.42
6B	10/22 (45.4)	11/21 (52.3)	0.64	10/28 (35.7)	11/26 (42.3)	0.61
9V	10/22 (45.4)	12/22 (54.5)	0.54	12/28 (42.8)	14/26 (53.8)	0.41
14	9/13 (69.2)	9/10 (90)	0.23	15/28 (53.5)	16/26 (61.5)	0.55
18C	14/18 (77.7)	10/15 (66.6)	0.47	16/28 (57.1)	19/26 (73)	0.22
19F	7/16 (43.7)	6/9 (66.6)	0.27	7/28 (25)	10/26 (38.4)	0.28
23F	12/24 (50)	10/19 (52.6)	0.86	13/28 (46.4)	14/26 (53.8)	0.58

^a Number of strains of each tested serotype that seroconverted upon vaccination / total strains tested of each serotype with baseline anti-pneumococcal level < 1.3 µg/mL (%); ^b Number of strains of each tested serotype with ≥ 4-fold increase in anti-pneumococcal levels from baseline / total strains tested of each serotype (%); IS group = under therapeutic immunosuppression; non-IS group = not under therapeutic immunosuppression. P values were determined by chi-square test.

Table 4. Patients` responses to pneumococcal polysaccharide vaccination

Percentage of tested serotypes per patient that responded to vaccination	Seroconversion response rates ^a			≥ 4-fold response rates over baseline antibody levels ^b		
	IS group (n = 28)	non-IS group (n = 26)	p	IS group (n = 28)	non-IS group (n = 26)	p
< 50%	10 (35.7)	6 (23.1)		16 (57.1)	10 (38.5)	
50-69%	8 (28.6)	9 (34.6)		5 (17.9)	7 (26.9)	
≥ 70%	10 (35.7)	11 (42.3)	0.62	7 (25)	9 (34.6)	0.44

^a Number of patients (%) who seroconverted upon vaccination to < 50%, 50-69%, and ≥ 70% of tested serotypes; ^b Number of patients (%) with ≥ 4-fold increase over baseline antibody levels to < 50%, 50-69%, and ≥ 70% of tested serotypes; IS group = under therapeutic immunosuppression; non-IS group = not under therapeutic immunosuppression; NA = not applicable. P values were determined by chi-square test.

Table 5. Pre- and post-vaccine anti-pneumococcal antibody concentrations (median values - µg/mL)

Serotype	IS group (n = 28)			non-IS group (n = 26)			p ^b
	Pre	Post ^a	Ratio post/pre	Pre	Post ^a	Ratio post/pre	
4	0.55	1.40	2.5	0.7	2.65	3.7	0.23
6B	0.45	1.65	3.6	0.5	2.3	4.6	0.37
9V	0.45	2.35	5.2	0.4	2.85	7.1	0.69
14	1.40	12.60	9	1.95	20.1	10.3	0.03
18C	0.80	5.30	6.6	0.95	7.75	8.1	0.30
19F	0.90	1.75	1.9	1.65	7.9	4.7	0.01
23F	0.40	1.80	4.5	0.65	4.45	6.8	0.18

^a p < 0.001 as compared to pre-vaccine antibody levels for each tested serotype (Wilcoxon signed-rank test); ^b For comparison of post-vaccine anti-pneumococcal concentrations between IS group and non-IS group (Mann-Whitney U test); IS group: under therapeutic immunosuppression; non-IS group: not under therapeutic immunosuppression.

ANEXO – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa

The screenshot displays the 'Plataforma Brasil' web interface. The browser address bar shows the URL: `aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/visao/pesquisador/gerirPesquisa/gerirPesquisaAgrupador.jsf`. The page header includes the 'Saúde Ministério da Saúde' logo and the 'Plataforma Brasil' logo. Navigation buttons for 'Público', 'Pesquisador', and 'Alterar Meus Dados' are visible. The user is identified as 'rodrigo poubel vieira de rezende - Pesquisador | V3.0' with a session expiration of 39 minutes and 45 seconds.

The main content area is titled 'DETALHAR PROJETO DE PESQUISA'. It contains a section for 'DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA' with the following information:

- Título da Pesquisa:** Avaliação da resposta sorológica em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico imunizados com a vacina antipneumocócica polissacarídica
- Pesquisador Responsável:** rodrigo poubel vieira de rezende
- Área Temática:**
- Versão:** 2
- CAAE:** 08120412.8.0000.5259
- Submetido em:** 18/11/2012
- Instituição Proponente:**
- Situação da Versão do Projeto:** Aprovado
- Localização atual da Versão do Projeto:** Hospital Universitário Pedro Ernesto/ UERJ
- Patrocinador Principal:** Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

A circular stamp on the right side of the details section reads 'COORDENADOR ORIGINAL' and 'PLATAFORMA BRASIL'. Below the details, a 'Comprovante de Recepção' is shown with the file name 'PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_81204'.

The 'DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA' section features a tree view on the left and a table on the right:

- Tree View:**
 - Versão Atual Aprovada (E2) - Versão 5
 - Emenda (E2) - Versão 5
 - Currículo dos Assistentes
 - Documentos do Projeto
 - Declaração de Pesquisadores - Submis...
 - Folha de Rosto - Submissão 1
 - Informações Básicas do Projeto - Submi...
 - Outros - Submissão 1

The table on the right has the following columns: 'Tipo de Documento', 'Situação', 'Arquivo', 'Postagem', and 'Ações'.

The Windows taskbar at the bottom shows the search bar with 'Pesquisar na Web e no Windows', several application icons, and system tray information: 'POR PTB2 06:29 03/03/2016'.