**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
PÓS-GRADUAÇÃO – ÁREA PEDIATRIA**

ALINE LOBO DE OLIVEIRA

**ESTUDO DE IMUNOGENICIDADE DA VACINA HPV EM PACIENTES COM
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO JUVENIL E DERMATOMIOSITE JUVENIL**

Projeto apresentado à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.
Programa: Saúde da Criança e do Adolescente
Departamento de Pediatria e Puericultura

ORIENTADORA: Profa. Dra. Gecilmara Salviato Pileggi

**Ribeirão Preto
2017**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus USP - Ribeirão Preto

Oliveira, Aline Lobo de

Estudo de imunogenicidade da vacina HPV em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e dermatomiosite juvenil. Ribeirão Preto, 2017.

73p.: il.; 30 cm

Projeto apresentado à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Saúde da Criança e do Adolescente

Orientadora: Pileggi, Gecilmara Salviato

1. Vacina quadrivalente HPV. 2. Lúpus eritematoso juvenil. 3. Dermatomiosite juvenil. 4. Imunogenicidade

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aline Lobo de Oliveira

Estudo de imunogenicidade da vacina HPV em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil e Dermatomiosite Juvenil.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus pelas inúmeras bênçãos recebidas em todos os dias da minha vida, sem sua presença e tua graça eu não teria conseguido.

A minha orientadora Profa. Dra. Gecilmara Cristina Salviato Pileggi que me concedeu a oportunidade de ser sua aluna, depositando sua confiança, só tenho a agradecer pelos ensinamentos, paciência, pelo seu lado humano e por me ajudar nessa etapa da minha vida.

As pacientes que participaram deste estudo, sem vocês este trabalho não seria concretizado, agradeço pela confiança que depositaram em meu trabalho, à vocês todo meu carinho e respeito.

Aos responsáveis por cada centro participante do estudo, agradeço pelo empenho, pela confiança, juntos formamos um grande time.

Aos membros da banca, Prof. Dra. Aparecida Yulie Yamamoto e Prof. Dr. Flávio Sztajnbok por disponibilizarem seu tempo, pelas sugestões que só contribuíram para o engrandecimento deste trabalho.

A Cleonice Sandoval Barbosa pela seu apoio, sugestões e ajuda principalmente no envio das amostras sem seu conhecimento e dedicação nada seria possível a toda sua equipe Alessandra Zampolo e Tatiana Balducci meu muito obrigada pelo apoio por me ajudarem quando eu precisei, à vocês meu carinho e admiração.

A minha mãe Mirian que me proporcionou todo apoio e ajuda para que eu chegasse até aqui, e realizar meu sonho e ao meu pai Jose Carlos (in memoriam) mesmo tendo poucos anos de convívio, sinto sua presença em vários momentos de minha vida.

Ao meu irmão Davi, que sempre acreditou em mim me deu apoio quando eu mais necessitei, o anjo que meu pai deixou para mim, obrigada pelo companheirismo, carinho e amor transmitido em todas suas atitudes para comigo.

Aos meus avós paternos Durvalina e Waldemar de Oliveira (Sr Belim) (in memoriam) por me ensinarem os valores da vida, e tudo o que não se aprende em nenhuma faculdade a amar a natureza, a terra, os animais e a sentir a presença de Deus através destes seres.

Aos meus avos maternos Jose Lobo (in memoriam) e Zulmira que me ensinaram a ter fibra, encarar a vida, a superação, através de seus exemplos de vida.

A minha prima irmã Mariana pelo apoio, força, compreensão, ajuda no momentos difíceis e por me fazer sorrir.

As minhas tias e tios, obrigada pelas palavras de incentivo e torcida.

A minha companheira de estudo Natalia Balera pela ajuda com o recrutamento das pacientes, planilhas e companhia durante as disciplinas.

Ao Davi Aragon estatístico pela análise dos dados.

As minhas amigas e companheiras de profissão Aline Turatti, Daniela Nascimento, Natalia de Paula meu muito obrigada pelo incentivo, apoio, conversas e risadas, tornando os meus dias mais leves.

E a alguns anjos que Deus colocou em minha vida: Tania Trevilato, Prof. Dra. Ana Maria Roselino que me apresentaram ao mundo da pesquisa, incentivaram e muito me ensinaram, meu eterno carinho e admiração.

E a todos que contribuíram diretamente e indiretamente.

Muitíssimo Obrigada de Coração a todos vocês!

Oliveira AL. **Estudo de Imunogenicidade da Vacina HPV em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico e Dermatomiosite Juvenil**. Ribeirão Preto, 2017. 73p. [Projeto]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 2017.

RESUMO

Introdução: As infecções pelo papiloma vírus (HPV), geralmente são assintomáticas e transitórias, porém, em indivíduos com doenças autoimune, onde há um comprometimento da imunidade causado por mecanismo inerentes a própria doença e pelo tratamento com drogas imunossupressoras, o risco destas infecções evoluírem para lesões metaplásicas e neoplásicas é alto. A forma mais eficiente de prevenção deste tipo de desfecho é a vacinação contra HPV. Assim, a indicação desta vacina seria fundamental para a proteção destes pacientes, porém, devido aos fatores citados, pressupõem-se que a resposta poderia ser menos eficiente.

Objetivo: Avaliar a imunogenicidade da vacina contra HPV quadrivalente em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESJ) e Dermatomiosite juvenil (DMJ).

Métodos: Estudo prospectivo de intervenção multicêntrico, onde foram incluídas 328 meninas e adolescentes (9-20 anos) em 13 centros oriundos de diferentes regiões do Brasil. Porém apenas 246 indivíduos preencheram os critérios de inclusão. O protocolo do estudo previa a aplicação de 3 doses da vacina (0,2 e 6 meses). Os grupos foram divididos em: Grupo A (paciente 206 portadoras de LESJ); Grupo B (pacientes 40 portadoras de DMJ); Grupo C (controle 41 indivíduos saudáveis). A avaliação sorológica foi realizada nos momentos 0, 3, 7 e 12 meses do início do estudo e para mensurar os níveis de anticorpos produzidos para subtipos HPV 16 e HPV18 foi utilizado o imunoensaio Luminex. Foram considerados respondedoras as pacientes ou controles que apresentassem anti-HPV 16 acima do cutt-off= 9 mMU/ml e para anti-HPV 18 acima de 13 mMU/ml.

Resultados: 246 meninas e adolescentes completaram o protocolo do estudo, sendo 206 pacientes do grupo A, 40 pacientes do grupo B e 41 controles grupo C. Ao todo tivemos 39 indivíduos que não responderam a vacina, sendo 23 do grupo A, 8 grupo B e 8 grupo C. E 82 descontinuidades do estudo por motivos diversos como: receio a reações a vacina, mudança de cidade, gravidez e óbito.

Na análises comparativas feitas entre os grupos. Não foi observado nenhum fator de risco que influenciou na não resposta a vacina dentre as variáveis consideradas: faixa

etária (9-13, 14- 20 anos), número de doses (2 ou 3), tipo e atividade da doença de base, além das várias drogas utilizadas no tratamento, analisadas individual e em associações.

Conclusão: A vacinação contra HPV parece ser imunogênica para o grupo de pacientes com LESJ ou DMJ, porém parte delas apresentam uma resposta parcial à vacina, com resposta efetiva a apenas um dos sorotipos avaliados (16 ou 18). Nenhum fator de risco foi encontrado que possa ter influenciado na não resposta a vacina.

Palavras chave: Vacina Quadrivalente HPV, Lúpus eritematoso sistêmico juvenil, Dermatomiosite juvenil, Imunogenicidade

Oliveira AL. **Immunogenicity Study of Hpv Vaccine in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Juvenile Dermatomyositis.** Ribeirão Preto, 2017. 73p. [Projeto]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 2017.

ABSTRACT

Introduction: Papillomavirus (HPV) infections are generally asymptomatic and transient, but in individuals with autoimmune diseases whom used to have a compromise of the immunity caused by mechanisms inherent to the disease itself in addition to the treatment with immunosuppressive drugs. Thus, the risk of these infections progress for metaplastic and neoplastic lesions is high in these individuals. Vaccination is essential for the protection of these patients, however because the characteristics of their immune system may be less effective.

The most efficient way to prevent this type of outcome is vaccination against HPV. Thus, the indication of this vaccine would be fundamental for the protection of these patients, however due to the compromise in the immune system, it is possible to assumed that the response could be less efficient.

Objective: To evaluate the immunogenicity of the quadrivalent HPV vaccine in patients with Juvenile Systemic Lupus Erythematosus (JSLE) and Juvenile Dermatomyositis (JDM).

Methods: A multicenter prospective study, including 328 girls and adolescents (9-20 years) in 13 centers from different regions of Brazil. The study protocol provided for the application of 3 doses of the vaccine (0.2 and 6 months). During the study blood collections and serological evaluation was performed at time points 0, 3, 7 and 12 months after the start of the study in 206 SLEJ patients (group A), 40 JDM patients (group B) and 41 healthy controls (group C). To evaluate the levels of antibodies produced for HPV 16 and HPV18 subtypes the *Luminex* immunoassay was used. Patients or controls with anti-HPV 16 cutt-off = 9 anti-HPV 18 = 13 were considered as responders.

RESULTS: Of the 328 girls and adolescents included, 246 girls and adolescents completed the study protocol, being 206 patients in group A, 40 patients in group B and 41 controls in group C. In all we had 39 individuals who did not respond to the vaccine, being 23 of group A, 8 group B and 8 group C. E 82 study discontinuities for

various reasons such as: fear of reactions to the vaccine, city change, pregnancy and death.

In the comparative analyzes made between the groups. No risk factor was observed that influenced the non-response to the vaccine among the variables considered: age range (9-13, 14-20 years), number of doses (2 or 3), type and activity of the underlying disease, Of the various drugs used in the treatment, analyzed individually and in associations. 287 completed the study.

Conclusion: the vaccine anti-HPV seems to be immunogenic in JLES and JDM patient, however a percentage of patients have showed a partial response to the vaccine, just a one of the serotypes 16 or 18. No risk factor was found that May have influenced the non-response to the vaccine.

Key words: Quadrivalent HPV vaccine, Juvenile lupus erythematosus, Juvenile dermatomyositis, Immunogenicity

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Drogas utilizadas em reumatologia e local de ação no sistema imune.....	24
Tabela 2 -	Centros de reumatologia pediátrica participantes do estudo e estado do Brasil	30
Tabela 3 -	Roteiro dos procedimentos feitos em cada visita.....	32
Tabela 4 -	Número de pacientes portadores de LES (grupo A) que tiveram a resposta parcial e total.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Micrografia eletrônica de partículas do papiloma vírus.....	18
Figura 2.	Como a vacina é produzida.....	20
Figura 3.	Ação da vacina no sistema imunológico.....	22
Figura 4.	Pacientes e controle no estudo e avaliação da resposta à vacina.....	38
Figura 5.	Níveis de AC anti HPV 16 avaliados em todos os momentos do estudo comparando os diferentes incluídos.....	41
Figura 6.	Níveis de AC anti HPV 18 avaliados em todos os momentos do estudo comparando os diferentes incluídos.....	41

LISTA DE ABREVIATURA

HPV -	Papiloma Vírus Humano
DST -	Doença Sexualmente Transmissível
DNA -	Ácido Desoxirribonucleico
VLPs -	Partículas de Vírus Recombinantes Semelhantes
FDA -	Food and Drug Administration
PNI -	Programa Nacional de Imunização
LES -	Lúpus Eritematoso Sistêmico
DMJ -	Dermatomiosite Juvenil
CRIE -	Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais
HIV –	Vírus da Imunodeficiência Humana
DAI-	Doença Autoimune
TNF-	Fator de Necrose Tumoral
IL1-	Interleucina 1
IL2-	Interleucina 2
IL3-	Interleucina 3
IL6-	Interleucina 6
IFNy-	Interferon Gama
IL 12-	Interleucina 12
Th1-	Linfócito Th1
pH-	Potencial Hidrogeniônico
SLEDAI-	SLE Disease Activity Index (Índice de atividade da doença do LES)
CMAS-	Childhood Myositis Activity Score (Escore de Atividade Myosite na Infância)
ACR-	Colegiado Americano de Reumatologia
IATA-	Internacional Air Transportation Association
CEP-	Comitê de Ética em Pesquisa
LU/ml	Unidade Luminex

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

ABREVIATURAS

Relevância do Problema	14
1. Introdução	16
1.1 O Vírus do Papiloma Humano	17
1.1.1 O Vírus HPV	17
1.1.2 Estrutura do Vírus HPV	18
1.2 Vacina	19
1.2.1 Vacinação em indivíduos saudáveis	21
1.2.2 Vacinação em pacientes com doenças autoimune	22
1.2.3 Características dos Pacientes com LES e DMJ	23
1.2.4 Drogas utilizadas no tratamento do LESJ e DMJ	24
2. Justificativa	25
3. Objetivos	27
3.1 Objetivo Primário	28
3.2 Objetivo Secundário	28
4. Metodologia	29
4.1 Tipo de Estudo	30
4.2 População do estudo	30
4.2.1 Pacientes	30
4.3 Grupo controle	31
4.4 Visitas	32
4.5 Vacinação	33
4.6 Amostras	33
4.7 Preparo e transporte das amostras	33
4.8 Imunidade humoral - Sorologia para HPV	34
5. Análise Estatística	35
6. Resultados	37
7. Discussão	42
8. Conclusão	47
Referências	49
Anexos	54

Relevância do Problema

RELEVÂNCIA DO PROBLEMA

O vírus papiloma humano (HPV) é um vírus sexualmente transmissível, e a sua infecção é considerada o principal fator de risco para desenvolvimento de carcinoma de colo de útero, sendo também associado a tumores de pênis, ânus, boca e garganta (NIKOLAKIS et al., 2015). Considerada uma das Doenças sexualmente transmissíveis (DST) mais comuns do mundo, sua maior prevalência como infecção única, ou com infecção com vários subtipos de HPV foi constatada em adolescentes sexualmente ativas, assim como em mulheres jovens e portadoras de deficiência imunológica (WALBOOMERS et al., 1999)

Em março de 2014 a vacina contra o HPV quadrivalente Gardasil® foi adicionada ao Programa Nacional de Imunização (PNI) inicialmente para meninas de 11 à 13 anos, em 2015 passou a contemplar faixa etária mais abrangente de 9 a 13 anos de idade (“INFORME TÉCNICO DA VACINA PAPILOMAVÍRUS HUMANO 6, 11, 16 E 18 (RECOMBINANTE)”, 2015)

Sabendo que a vacinação é uma estratégia de saúde pública mais utilizada para reduzir o risco de infecção e minimizar a prevalência do agente causador da doença, ela se tornou fundamental para a proteção de infecções em pacientes com comprometimento do sistema imune, como os portadores de doenças autoimune (SCHILLER; CASTELLSAGUÉ; GARLAND, 2012)

Assim, consideramos muito importante conhecer a imunogenicidade da vacina contra o HPV neste grupo específico de pacientes para assegurar que a proteção almejada seja alcançada (WRAITH; GOLDMAN; LAMBERT, 2003).

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO - entendendo o problema

1.1 O Vírus do Papiloma Humano

1.1.1 O Vírus HPV

O papiloma vírus humano (HPV) é um vírus de duplo DNA pertencente à família *Papillomaviridae* que possui mais de 200 subtipos, os quais podem infectar os humanos, sendo a região ano genital mais comumente afetada (LIZANO; BERUMEN; GARCÍA-CARRANCÁ, 2009).

A sua transmissão ocorre através do contato direto com a pele ou mucosa infectada, sendo o contato sexual a sua principal forma. A infecção pelo vírus é o principal fator de risco para desenvolvimento de carcinoma de colo de útero, como também a tumores de pênis, ânus, boca e garganta (G. et al., 2015).

Os tipos de HPV variam quanto ao tropismo celular, associação a diferentes lesões e potencial oncogênico (EGAWA et al., 2015). Assim, podem ser divididos em dois grupos: baixo risco representado principalmente pelos tipos 6 e 11 encontrados em condilomas acuminado vulvo-genitais (verrugas) conhecidas popularmente como “crista de galo” e os de alto risco oncogênico pelos tipos 16 e 18 que são associados ao câncer cervical (MUÑOZ, 2000).

A infecção pelo HPV sozinho não é suficiente para desenvolver anomalias cervicais, e sim a combinação de vírus oncogênicos como os tipos:16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66 a persistência no tecido infectado e a resposta do sistema imunitário do hospedeiro que determinarão a evolução da infecção.(GREIN et al., 2016).

No trato genital a infecção pelo tipo 16 chega a ter até 66% de prevalência, seguidos pelos tipos 18 com 15% e 31 com 6%, sendo os 4 tipos juntos responsáveis por até 80% dos casos de carcinoma. O tipo 16 também é o mais detectado em carcinoma cervical invasor e o mais prevalente em quase todas as partes do mundo. Portanto mulheres com HPV 16 e 18 têm um risco maior em desenvolver câncer cervical quando comparadas com as que têm infecções pelos outros tipos (MUNOZ et al., 2003).

Em um grande número dos casos, o sistema imunitário é capaz de eliminar o vírus em 1 a 5 anos sem qualquer tratamento. Assim, apenas uma minoria de indivíduos infectados com o HPV desenvolvem complicações clínicas. As mulheres

jovens que ainda não iniciaram atividade sexual e as que têm múltiplos parceiros têm um maior risco de desenvolver alterações de HPV, uma vez que são mais susceptíveis a serem expostas a subtipos oncogênicos, bem como para uma alta taxa do vírus(GREIN et al., 2016)

Atualmente o câncer cervical é o quarto câncer mais comum e afeta mulheres em todo o mundo com uma estimativa de 528 mil novos casos e 266.000 mortes relacionadas em 2012(FERLAY J. SOERJOMATARAM I. DIKSHIT R., ESER S., AND MORTALITY WORLD WIDE: IARC CANCERBASE, 2013)

1.1.2 Estrutura do Vírus HPV

O HPV apresenta capsídeo icosaédrico não envelopado com diâmetro de 52 a 55 nm. Devido à ausência de envelope, o vírus é pouco estável e se mantém viável no meio extracelular por até uma semana(DOORBAR, 2005).

Figura 1. Micrografia eletrônica de partículas do papilomavírus.
Fonte: Stannard (1995).

Seu genoma é dividido em 3 regiões: Early(E), Long Control Region (LCR) ou Upstream Regulatory Region(URR) e Late (L). A região Early é assim denominada porque expressa precocemente as suas proteínas no ciclo viral, sendo as proteínas E6 e E7 as mais importantes. O grau de expressão de E6 e E7 está diretamente relacionado ao grau de lesão cervical, em lesões de baixo grau o DNA do HPV se

encontra de forma episomal, enquanto que em lesões de alto grau o DNA HPV se integra ao DNA da célula (KANODIA; FAHEY; KAST, 2007; SCHEURER; TORTOLERO-LUNA; ADLER-STORTHZ, 2005).

A expressão das proteínas virais é regulada e depende da diferenciação celular (22). Os papilomavírus infectam as células basais do epitélio somente quando a integridade do epitélio é comprometida por uma micro abrasão ou por algum trauma. O genoma viral se engloba nas células basais como um episoma. Um pequeno número de cópias de episomas é replicado em conjunto com os cromossomos da célula, estabelecendo um suprimento contínuo de células que geram as células filhas infectadas e começam a migrar para cima das camadas do epitélio até diferenciar-se nas camadas exteriores do epitélio (KANODIA; FAHEY; KAST, 2007)

1.2 Vacina

Quando se inicia a produção de uma vacina o esperado é que ela seja capaz de induzir uma resposta protetora, duradoura e com a maior segurança possível, esta também é uma preocupação deste estudo a segurança da vacina, por isso vale ressaltar que, paralelamente a este estudo, a segurança desta vacina está sendo analisada em outro estudo utilizando os mesmo indivíduos.

Para o presente estudo foi utilizada a vacina quadrivalente Gardasil® fabricada pela Merck aprovada pelo *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos (FDA) em 2006. Elaborada a partir do capsídeo viral vazio e produzida por tecnologia do DNA recombinante, as chamadas partículas semelhantes a vírus (VLPs) sendo composta por HPV 6 (20 µg), 11 (40 µg), 16 (40 µg) e 18 (20 µg) adsorvidas ao adjuvante hidroxifosfato de alumínio, as diferentes doses desses antígenos refletem a imunogenicidade ligeiramente diferente de cada um dos componentes (SHAW, 2013).

Apesar da vacina ser composta por partículas semelhantes aos vírus essas partículas não possuem DNA viral portanto não são infectantes, apenas são capazes de induzir a produção de anticorpos contra os tipos específicos de HPV contidos na vacina (MARKOWITZ et al., 2007)

Como a vacina HPV é produzida

A vacina contra o papilomavírus humano (HPV) contém partículas semelhantes a vírus (VLPs) - capsídeos virais vazios sem DNA. Produzidas por tecnologia de DNA recombinante, são eficazes e seguras, não representando riscos de infecção ou câncer.

Figura 2. Como a vacina é produzida

Extraído do link <http://www.mdedge.com/ccjm/article/95879/infectious-diseases/human-papillomavirus-vaccine-safe-effective-underused> e modificado

A vacina contra HPV foi incluída em março no calendário do Programa Nacional de Imunização (PNI) inicialmente contemplando meninas de 11 a 13 anos de idade, e a partir de março de 2015 houve ampliação da faixa etária de cobertura da vacina de 9 a 13 anos de idade, a fim de ser administrada antes do início da atividade sexual, porém mesmo após o início da atividade sexual adolescentes e mulheres na idade adulta podem se beneficiar com a vacinação (“INFORME TÉCNICO DA VACINA PAPILOMAVÍRUS HUMANO 6, 11, 16 E 18 (RECOMBINANTE)”, 2015)

Atualmente no Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE) a vacina do HPV está disponível para meninas e mulheres de 9 a 26 portadoras de HIV positivo. Para esta população, considerada imunossuprimida, o esquema vacinal proposta é de 3 doses (0-2 e 6 meses). (“Nota informativa conjunta nº 01/2015-CGONI/DEVIT-DST/AIDS/SVS/MS”, 2015).

Mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) tem alta taxa de prevalência de infecção pelo HPV, as lesões tendem a ser mais agressivas e sua

progressão é mais rápida do que nas mulheres imunocompetentes, além disso, as lesões são de difícil tratamento e tem alta taxa de recorrência.

O esquema vacinal proposto pelo presente estudo também foi de 3 doses da vacina com intervalo de dois meses entre as 2 primeiras e terceira dose, é o esquema universalmente proposto para meninas e mulheres que apresentam algum grau de imunossupressão (RUBIN et al., 2014)

1.2.1 Vacinação em indivíduos saudáveis

Uma das estratégias de maior impacto no controle das infecções é a utilização de vacinas, onde são introduzidos no organismo substâncias antigênicas (proteínas, partes de vírus ou bactérias) com capacidade de deflagrar uma resposta imune completa de células B e T, culminando com a produção de anticorpos e memória imunológica. Este processo traduz a imunogenicidade, ou seja, a capacidade de induzir uma resposta imunológica no indivíduo através destes imunógenos vacinais, isso é o que se espera quando um indivíduo imunocompetente utiliza a vacina para se proteger contra diversas doenças (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2009)

O conhecimento dos mecanismos específicos envolvidos na resposta imunológica contra cada vírus em particular é fundamental para a elaboração de vacinas.

A etapa inicial da resposta imunológica específica é o reconhecimento de antígenos pelos linfócitos: T helper, T citotóxico e B. Em resposta ao contato com o antígeno, os linfócitos T helper secretam várias citocinas, que estimulam a atividade de outras células envolvidas na resposta imunológica. Os linfócitos T citotóxico reconhecem e destroem células infectadas por vírus e também secretam algumas citocinas. Estimulados pelo contato com o antígeno, os linfócitos B se proliferam e se diferenciam em plasmócitos, os quais produzem anticorpos. Os anticorpos agem se ligando a pequenas partes dos agentes infecciosos, encaixando-se como uma chave na fechadura e neutralizando o agente nocivo ou facilitando a sua destruição pelas células de defesa e fatores solúveis. Esta resposta é específica para cada tipo de agente infeccioso e caracteriza-se por apresentar memória imunológica (MCHEYZER-WILLIAMS; MCHEYZER-WILLIAMS, 2005) Esquematizado na figura abaixo.

Figura 3 - Ação da vacina no sistema imunológico.

Fonte: International AIDS Vaccine Initiative Adaptado.

1.2.2 Vacinação em pacientes com doenças autoimune

Embora o sistema imune esteja prontamente preparado para responder defensivamente a possíveis agentes externos, existem algumas situações em que ocorre uma resposta inapropriada onde o próprio organismo desenvolve uma resposta imune dirigida contra ele próprio, isso ocorre devido a uma incapacidade de distinção entre antígenos próprios e não próprios chamada de autoimunidade (ABBAS ABUL K.; LICHTMAN;; PILLAI, 2012).

As doenças autoimunes (DAI) atingem de 5 a 7% da população mundial, compondo um grupo de patologias complexas afetando jovens e principalmente mulheres, tornando-se uma das principais causas de morbidade e mortalidade. Infecções neste grupo de pacientes com DAI apresentam um alto risco de complicações devido a fatores inerentes à doença de base levando a disfunções do sistema imune, além disso um outro fator que contribui para o aumento de comorbidades é o tratamento utilizado nestes pacientes que são baseados no uso de medicamentos imunossupressores (FERREIRA; ISENBERG, 2014).

Tendo em vista a maior susceptibilidade destes pacientes a infecções e suas complicações, e sabendo que a vacinação é uma estratégia de saúde pública mais utilizada para reduzir o risco de infecção e minimizar a prevalência do agente causador da doença, ela se tornou fundamental para a proteção de infecções em pacientes com comprometimento do sistema imune, como os portadores de doenças autoimunes (SCHILLER; CASTELLSAGUÉ; GARLAND, 2012). Infelizmente, tanto a imunogenicidade quanto a segurança da vacinação neste grupo especial de pacientes ainda é um tema em debate com muitas lacunas a serem preenchidas.

A preocupação de que as vacinas possam ser menos eficazes nestes pacientes, que apresentam distúrbios do sistema imune relacionados a própria doença de base, associado à terapia imunossupressora utilizada no tratamento destas pacientes, torna iminente a necessidade de estudos que avaliem a resposta da imunização em pacientes com Lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ) e Dermatomiosite juvenil (DMJ).

1.2.3 Características dos Pacientes com LES e DMJ

O Lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ) é uma doença autoimune sistêmica de origem desconhecida, caracterizada por uma inflamação crônica e diversas manifestações clínicas, bem como presença de auto anticorpos, que atuam de forma a atacar o próprio organismo do paciente (LYRIO et al., 2013).

Crianças e adolescentes com LESJ são mais propensas à infecção por diferentes agentes etiológicos do que comparadas a população clinicamente saudáveis (BARBER; GOLD; FORTIN, 2011).

Esta maior susceptibilidade pode ser explicada pelas diferentes anormalidades intrínsecas da doença, associada pelo uso da terapia imunossupressora (CUCHACOVICH; GEDALIA, 2009).

Este grupo de pacientes tem alguns mecanismos defeituosos que estão envolvidos com a resposta imune inata, como inapropriada ativação dos receptores *Toll-like* para antígenos, deficiência de lectina de ligação a manose e deficiência do sistema complemento. Além disso, essas pacientes também apresentam anormalidades nas respostas imunes adaptativas como perda da auto tolerância em linfócitos T e B e uma menor produção de algumas citocinas (RAMOS-CASALS et al., 2008).

Em relação aos imunossupressores utilizados na terapêutica da doença, ainda não há um consenso na literatura quanto à possibilidade ou não do uso destas drogas estarem associados a uma maior prevalência de infecção pelo HPV em mulheres com LES, entretanto o uso da Ciclofosfamida parece estar relacionado ao aumento da prevalência pela infecção pelo HPV tipo 16 em mulheres que fazem o uso desta droga (ROJO-CONTRERAS et al., 2012)

Assim como o LESJ, a Dermatomiosite juvenil (DMJ) também é uma DAI que acomete crianças e adolescentes com idades entre 2 e 17 anos, identificada por uma vasculopatia sistêmica e erupções cutâneas, sendo a fraqueza muscular progressiva uma das características mais relatadas entre as pacientes portadoras de DMJ, causando dificuldade de executarem tarefas cotidianas como: levantar objetos, abrir porta, escovar os cabelos (ORTIGOSA; REIS, 2008).

1.2.4 Drogas utilizadas no tratamento do LESJ e DMJ

As drogas utilizadas no tratamento destas doenças conferem um grau variado de imunossupressão dependendo da sua atuação no sistema imunológico, doses e tempo que são utilizadas, proporcional à gravidade da doença a ser tratada (MILLER; RANATUNGA, 2012), conforme descritas na tabela 1.

Tabela 1 - Drogas utilizadas em reumatologia e local de ação no sistema imune.

DROGA	AÇÃO NO SISTEMA IMUNOLÓGICO
Corticóides	Capazes de inibir TNF, IL-1, IL-2, IL-3 e IL-6. Têm efeito direto nos linfócitos, diminuindo o número das células T circulantes. Atuam também comprometendo a imunidade inata, afetando a adesão leucocitária e reduzindo o número de neutrófilos. Inibe as enzimas dependentes de folato, inibindo o metabolismo de purinas e pirimidinas. A mais relevante é a diidrofosfato redutase, aumentando os níveis de adenosina. O resultado final é a redução da secreção de TNF, IFN- γ e IL-12, bem como a inibição da fagocitose.
Metotrexato	Interfere na apresentação de antígenos aos linfócitos. Dessa forma inibindo a via de transdução de sinal que leva à inflamação, antiapoptose e proliferação. No entanto, seu efeito mais importante consiste na depleção de pirimidinas, bloqueando o ciclo celular. Dessa forma, é capaz de reduzir a resposta inflamatória Th1.
Leflunomida	Aumentam o pH dos lisossomos, prejudicando o processamento de proteína. As drogas mais relevantes são a azatioprina e a ciclofosfamida. A primeira bloqueia a síntese de purinas e o reparo do DNA.
Antiproliferativos	Assim, inibe a proliferação de células hematopoiéticas. A segunda é um agente anquilante que reduz as células Te B.
Micofelanato mofetil	Inibe a proliferação de linfócitos T e B e reduz a produção de linfócitos T citotóxicos, afetando as células T e B em maior grau do que outros tipos de células.

Fonte: adaptada Guia de imunizações reumatologia 2014/2015.

2. Justificativa

2. JUSTIFICATIVA

Resultados preliminares de estudos já realizados com vacina HPV em pacientes com LESJ e DMJ demonstraram resposta prejudicada à esta vacina (MARLOE W. HEIJSTEK, MIRTE SCHERPENISSE, NOORTJE GROOT, NICO M. WULFFRAAT AND FIONA R.M, [s.d.]).(dados do centro colaborador Holanda) Os mecanismos que possam interferir nesta resposta ainda não estão totalmente esclarecidos. Assim, sabendo que essa população tem um risco maior de adquirir a infecção pelo vírus HPV, e evoluir com maior frequência para lesões carcinogênicas desencadeadas por esta infecção, fomos motivados a desenvolver o presente estudo na tentativa de buscar respostas a essas questões e propor esquemas vacinais mais eficazes para essa população de pacientes com DAI em uso de medicações imunossupressoras.

3. Objetivos

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Primário

O principal objetivo deste estudo é determinar a imunogenicidade da vacinação contra o HPV em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico juvenil (LESJ) e Dermatomiosite juvenil (DMJ).

3.2 Objetivo Secundário

Verificar se: idade, número de doses da vacina, tipo de doença de base, estar em atividade da doença ou seu tratamento poderiam interferir na resposta à vacina.

4. Metodologia

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Estudo

Este foi um estudo de intervenção prospectivo multicêntrico. Participaram do estudo 13 centros de atendimento de reumatologia pediátrica no Brasil, listados na tabela abaixo, tendo como centro coordenador o serviço de reumatologia pediátrico do HCFMRP.

Tabela 2- Centros de reumatologia pediátrica participantes do estudo e estado do Brasil.

CENTRO PARTICIPANTE	ESTADO
Hospital infantil Albert Sabin	CE
Hospital Universitário Prof. Edgard Santos	BA
Instituto do Câncer Infantil e Pediatria Especializada-ICIPE	DF
Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória	ES
Hospital Universitário Pedro Ernesto	RJ
Instituto de Puericultura e Pediatria Matarão Besteira	RJ
Faculdade de Ciências Médicas-Unicamp	SP
Faculdade de Medicina Botucatu-Unesp	SP
Instituto da Criança HC-FMUSP	SP
Hospital Darcy Vargas	SP
Universidade Federal de São Paulo	SP
Santa Casa	SP
Universidade Federal do Rio de Janeiro	RJ

4.2 População do estudo

4.2.1 Pacientes

Durante o período de um ano, foram identificadas as pacientes elegíveis que estavam em seguimento nestes 13 serviços de reumatologia pediátrica.

Todas as pacientes selecionadas e seus responsáveis legais receberam informações sobre a pesquisa durante encontro após sua consulta de rotina, onde tiveram a chance de tirar dúvidas. Todas que aceitaram participar do estudo, os responsáveis receberam, assinaram termo de consentimento e para os pacientes menores de 18 anos o termo de assentimento.

Para inclusão, os seguintes critérios de inclusão e exclusão foram utilizados:

Critérios de inclusão

- Sexo feminino - Meninas e adolescentes
- Idade das pacientes: 09 a 21 anos.
- Com diagnóstico definido por critérios já estabelecidos (ACR) das seguintes doença autoimunes que tiveram seu início antes dos 18 anos.
- Lúpus Eritematoso Sistêmico juvenil (LESJ)
- Dermatomiosite juvenil (DMJ).

Critérios de exclusão

- Não fornecimento do termo de consentimento informado pelos pais ou discordância da criança ou adolescente (termo de assentimento).
- Recusa quanto a punções venosa
- História de carcinoma de colo de útero suspeito ou comprovado

Medicação

- Não houve restrição ou contraindicação de medicamentos para participar do estudo e receber a vacinação.

4.3 Grupo controle

No centro coordenador, foram incluídos parentes e amigas das pacientes do estudo e participaram como um subgrupo controle de meninas e adolescentes saudáveis que atendiam aos mesmos critérios de exclusão e o seguintes para inclusão:

- Sexo feminino - Meninas e adolescentes
- Idade do grupo controle: 9 a 18 anos.
- Não ter nenhum tipo de doença crônica e aguda e
- Não receber nenhum tipo de medicação

4.4 Visitas

Como a maioria dos pacientes são avaliados regularmente a cada 3 meses, não foram necessárias visitas extras para participarem do estudo.

Em cada visita foram realizadas as coletas de sangue e doses da vacina conforme o intervalo proposto de 2 meses entre a 1ª e 2ª dose e 6º meses a terceira dose, assim como foram verificados atividade da doença e uso de medicações. Conforme descrição na tabela abaixo.

Tabela 3 - Roteiro dos procedimentos feitos em cada visita.

PROCEDIMENTOS	MOMENTO T1	MOMENTO T2	MOMENTO T3	MOMENTO T4
Consentimento informado	Entrega e assinatura do TCLE.			
Dose da vacina	Aplicação 1ª dose da vacina	Aplicação 2ª dose da vacina	Aplicação da 3ª dose da vacina	
Entrega diário	Entrega diário para anotações de possíveis reações adversas	Devolução do 1º diário e entrega do 2º diário.	Devolução do 2º diário e entrega do 3º diário.	Devolução do 3º diário
Coleta de sangue	Coleta de 5 ml de sangue	Coleta de 5ml de sangue	Coleta de 5ml de sangue	Coleta de 5 ml de sangue
Verificação da Atividade da doença SLEDAI (LES) e CMAS(DMJ)	Aplicação dos questionários para verificar atividade da doença		Aplicação dos questionários para verificar atividade da doença	
Medicações em uso	Verificação das medicações em uso pelo paciente.		Verificação das medicações em uso pelo paciente	

4.5 Vacinação

A vacinação foi realizada através da administração da vacina quadrivalente (Gardasil®) incluída desde março de 2014 no Programa Nacional de Imunização (PNI) que confere proteção não apenas contra os tipos 16 e 18, mas também contra os tipos 6 e 8 do HPV, que causam o condiloma acuminado.

O esquema vacinal adotado foi o de 3 doses da vacina realizadas com intervalo de 2 meses entre a 1ª e 2ª dose e 6º meses a terceira dose.

Todos os pacientes e controles saudáveis receberam as vacinas contra HPV, e em cada visita para a administração da dose da vacina um diário foi entregue a paciente onde continham vários campos a serem preenchidos informando se tiveram alguma reação a vacina durante 14 dias subsequentes.

4.6 Amostras

Foram coletadas amostras de sangue em 4 momentos diferentes: 0, 3, 7 e 12 meses após a primeira dose da vacina. Estas amostras foram processadas e armazenadas no laboratório de Imunologia Infantil Bloco G HCFMRP. Assim como todo o soro obtido nos 13 centros participantes que enviaram as amostras para o centro coordenador onde foram devidamente conferidas, etiquetadas, armazenadas. Todo o processamento e técnicas específicas para imunidade humoral foram realizadas no laboratório de imunologia da universidade de Utrech em colaboração com o Prof. Nico Wulffraat, patrocinadores do projeto.

4.7 Preparo e transporte das amostras

Todas as amostras que seguiram para o laboratório participante foram devidamente embaladas segundo especificações regulamentadas no IATA (*Internacional Air Transportation Association*) acondicionadas em um container primário, resistente a água e separadas entre si (individualmente) para evitar possíveis atritos, danos ao material com material absorvente localizado no centro de uma caixa rígida de transporte, acondicionadas em temperatura ideal através do uso de gelo seco em cada caixa container. As amostras enviadas foram consideradas como amostras para diagnóstico, desta forma, as caixas foram devidamente identificadas com etiquetas específicas para o tipo de material a ser enviado durante o transporte.

4.8 Imunidade humoral - Sorologia para HPV

Baseados na hipótese de que pacientes com DAI apresentam resposta imune sorológica reduzida à vacinação contra HPV, e que os títulos produzidos contra o HPV diminuem mais rapidamente do que em indivíduos saudáveis. Quantificamos os anticorpos antes da vacinação, no nível basal (pré-vacinação), após 2 doses e 3 doses (3 e 7 meses), além de 12 meses após o início da vacinação nas pacientes e controles saudáveis, que serviram de comparação entre os dois grupos distintos. Desta forma a imunogenicidade foi avaliada através dos níveis de anticorpos contra o HPV sorotipos 16 e 18 ao longo do tempo.

Todas as amostras de soro foram submetidas a técnica de ensaio competitivo Luminex onde os títulos de anticorpos anti-HPV 16 e anti-HPV 18. Nesta técnica, a imunogenicidade é analisada pela medição do nível e avidéz de anticorpos específicos de imunoglobulina (Ig) G de HPV. O nível de anticorpos IgG contra o vírus L1 do HPV Partícula VLP 16 e VLP 18.

Os soros foram incubados com pérolas conjugadas com VLP. O anticorpo específico HPV 16 e 18 foram detectados utilizando um conjugado de cabra com R-ficoeritrina IgG anti-humano (Laboratórios Jackson ImmunoResearch Inc, West Grove, Pensilvânia, EUA) e analisadas utilizando o sistema Bioplex 200 com o software Bioplex (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Califórnia, EUA). Os soros foram considerados anticorpos anti-HPV soropositivos a um corte de 9 Unidades Luminex / ml (LU / ml) para HPV16 e 13 LU / ml para HPV18.

Todas as pacientes que tiveram valores acima do ponto de corte para os 2 subtipos 16 e 18 foram consideradas positivas, ou seja, respondedoras a vacina. Aquelas que responderam à apenas 1 dos subtipos optamos por considera-las como resposta parcial à vacina.

5. Análise Estatística

5. Análise Estatística

Todas as informações foram codificadas e armazenadas anonimamente em um banco de dados criado para o estudo. Foi realizada análise descritiva para as variáveis qualitativas. Para as possíveis associações entre as variáveis categóricas avaliamos por meio do teste exato de Fisher. Valor de $p < 0,005$ foi considerado estatisticamente significativo.

6. Resultados

6. RESULTADOS

Inicialmente identificamos 328 pacientes elegíveis que preenchiam os critérios de inclusão em todos os centros. Porém foram incluídas no estudo um total de 246 pacientes, sendo 206 portadoras de LESJ (grupo A), 40 DMJ (grupo B) e 41 controles saudáveis (grupo C). Das pacientes que iniciaram o estudo 82 não finalizaram o protocolo com todas as visitas até o momento 4 (12 meses após entrada) devido à diversos motivos relatados a seguir e não foram incluídos na análise de imunogenicidade.

Das 82 que não foram incluídas na análise, 61 não compareceram a todas as visitas planejadas segundo o protocolo, 8 tiveram reação a efeitos adversos na 2ª ou 3ª dose da vacina, 6 mudaram de cidade e de serviço de seguimento, 3 engravidaram e 4 óbitos no decorrer do estudo.

Vale ressaltar que, os 4 óbitos que ocorreram durante o estudo não foram relatados como evento adverso à vacina e sim devido às complicações da própria doença ou quadros infecciosos. Todos foram devidamente documentados e comunicado ao CEP do Centro coordenador, que autorizou a continuidade do estudo concordando não haver relação do evento com a vacina, conforme anexo D.

No fluxograma abaixo está demonstrado o número de pacientes que iniciaram e quantas finalizaram o estudo.

Figura 4. Pacientes e controles incluídas no estudo e a avaliação de resposta à vacina

Na tabela abaixo estão descritos o número de indivíduos considerados respondedores completos e parciais, dentre as pacientes e controles. Foram considerados respondedores completos os indivíduos que responderam aos dois subtipos de vírus 16 e 18, e respondedores parciais os que responderam somente a um subtipo 16 ou 18. Nota-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos A e B (pacientes) e grupo C (controles). Vale ressaltar que, a resposta observada a apenas um dos sorotipos testados (16 ou 18) e foram consideradas respondedores parciais, sendo 137/287 (47,7%) os respondedores somente para o HPV 16 e 63/287 (21,9%) respondedores somente para o HPV 18. E 39/287 (13,5%) indivíduos não responderam a vacina

Tabela 4- Descrição do número absoluto e percentual de pacientes portadores de LESJ (grupo A), DMJ (grupo B) e controles (grupo C) que apresentaram resposta à vacina HPV parcial e completa, considerando variáveis: idade, número de doses, atividade da doença e medicações utilizadas.

Variável	Grupo A				Grupo B			
	Resposta			p-valor	Resposta			p-valor
	Nenhuma(0)	Parcial (1)	Total (2)		Nenhuma (0)	Parcial (1)	Total (2)	
Idade								
1	4(6.90)	7(12.07)	47(81.03)	0,27	4(22.22)	1(5.56)	13(72.22)	0,56
2	19(12.84)	26(17.57)	103(69.59)		4(18.18)	4(18.18)	14(63.64)	
Atividade								
0	2(10.53)	3(15.79)	14(73.68)	1,00	4(25.00)	1(6.25)	11(68.75)	0,56
1	21(11.23)	30(16.04)	136(72.73)		4(16.67)	4(16.67)	16(66.67)	
Doses								
2	3(15.00)	3(15.00)	14(70.00)	0,80	1(50.00)	0(0.00)	1(50.00)	0,55
3	20(10.75)	30(16.13)	136(73.12)		7(18.42)	5(13.16)	26(68.42)	
Medicação								
0	0(0.00)	1(25.00)	3(75.00)	0,66	5(25.00)	3(15.00)	12(60.00)	0,68
1	5(7.14)	10(14.29)	55(78.57)		1(7.69)	2(15.38)	10(76.92)	
2	3(5.66)	12(22.64)	38(71.70)		0(0.00)	0(0.00)	3(100.00)	

Grupo C				
Resposta				
Variável	Nenhuma(0)	Parcial (1)	Total (2)	p-valor
Idade				
1	3(33.33)	1(11.11)	5(55.56)	0,48
2	5(15.63)	3(9.38)	24(75.00)	
Atividade				
0	*	*	*	*
1	*	*	*	
Doses				
2	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	*
3	7(21.21)	3(9.09)	23(69.70)	
Medicação				
0	*	*	*	*
1	*	*	*	
2	*	*	*	

No grupo A (LESJ) foi observado uma resposta total menor a vacina (p-valor <0,05) se comparado aos outros grupos B (DMJ) e controles, porém, não houve associação com nenhum dos fatores de risco avaliados: uso de medicação ou atividade da doença.

Nas figuras 5 e 6 estão demonstrados os níveis de anticorpos anti-HPV produzidos pelos grupos A, B e C, para o subtipos HPV 16 e 18 respectivamente, considerando todos os momentos 0 (T1), 3 meses (T2), 7 meses (T3) e 12 meses (T4) do estudo.

Na Figura 5 (anticorpos anti HPV 16) podemos observar que no momento prévio a vacinação (T1) houve uma diferença entre os grupos A e B, correspondendo a pacientes que haviam recebido doses da vacina anterior a entrada no estudo. No momento 2 (T2) os níveis de Ac entre os grupos A, B e C também apresentaram uma diferença, porém não significativa. Nos momentos 3 (T3) e 4 (T4) os níveis de anticorpos se mantiveram, demonstrando que houve manutenção dos níveis de anticorpos após um ano da vacinação e que a resposta à vacina entre os grupos foi semelhante.

Na figura 6, podemos observar que os níveis de anticorpos produzidos para o subtipo HPV18 no momento basal (T1) para os grupos A e C ficaram abaixo da linha do limite considerado para avaliar resposta à vacina, e a partir de T2 e T3 os níveis de anticorpos se elevaram e se mantiveram em T4, com exceção do grupo A que

apresentou uma queda entre os momentos T3 (após 3 dose da vacina) e T4 (12 meses após a 1ª dose), porém não significativa.

Figura 5 - Níveis de AC ANTI HPV 16 avaliados em todos momentos do estudo comparando os diferentes grupos incluídos.

Figura 6 - Níveis de AC ANTI HPV 18 avaliados em todos momentos do estudo comparando os diferentes grupos incluídos

7. Discussão

7. DISCUSSÃO

A vacinação é uma estratégia na prevenção de doenças infecciosas utilizada no mundo todo, porém a sua indicação em pacientes com doenças autoimunes ainda é controversa, provavelmente pelo receio da correlação da administração de vacinas com o desencadeamento destas doenças e a falta de estudos epidemiológicos para responder a estas questões (C. et al., 2016; CHAO et al., 2012)

Além disso, os estudos que avaliaram a segurança da aplicação de vacinas, publicados até esta data, incluindo pacientes já portadores de DAI não evidenciaram reativação ou piora da atividade da doença após a imunização (PELLEGRINO; RADICE; CLEMENTI, 2015; SOUSA et al., 2016)

Motivados por esta necessidade iminente de respostas a esta questão que também poderia ser considerada de segurança, garantindo que os pacientes realmente estariam protegidos após imunização contra vacina HPV, que este estudo foi desenvolvido. Este foi o primeiro estudo multicêntrico incluindo um número expressivo de pacientes com LESJ e DMJ para avaliar resposta vacinal, considerando a inclusão de pacientes, tanto em atividade da doença como utilizando vários tipos de medicação que induzem imunossupressão em graus variados. Avaliamos a produção de anticorpos séricos anti HPV 16 e anti HPV 18 após segunda e terceira doses da vacina (3 e 7 meses após início do estudo) em 246 pacientes.

Os resultados demonstraram que a vacina quadrivalente foi imunogênica nos pacientes com LESJ e DMJ, com resposta semelhante ao grupo controle saudável. Além disso, foi observado que os níveis de anticorpos produzidos se mantiveram após um ano do início do estudo, variando um pouco entre os grupos de pacientes e controle, porém não houve declínio considerado significativo.

À semelhança dos nossos resultados, outros estudo utilizando vacinas produzidas com tecnologia do DNA recombinante, como é o caso da vacina HPV quadrivalente, também demonstraram resposta vacinal adequada em pacientes adultos portadores de LES, mesmo em situação de atividade da doença e vigência de tratamento (MOK et al., 2013).

Vale ressaltar, neste estudo pacientes com LES com idade entre 12 a 26 anos apresentam soroconversão de 94%, o que foi considerado excelente pelos autores (SOYBILGIC et al., 2013).

Vale lembrar também, que para outras vacinas recombinantes, como vacina contra hepatite B, em um estudo incluindo 64 pacientes com LESJ 80% apresentaram soroconversão adequada independente do tratamento imunossupressor que estavam recebendo no momento da vacinação (AYTAC et al., 2011)

Outro resultado do nosso estudo que nos deixou intrigados, o número expressivo de pacientes que apresentaram apenas resposta parcial deveríamos considerá-las respondedoras ou não. Várias análises foram realizadas na tentativa de identificar algum fator de risco relativo ou multifatorial que poderiam ter influenciado nesta resposta parcial ou (inadequada), como idade, número de doses, tipo e atividade da doença, tipo, dose e duração do tratamento utilizados durante o período do estudo. Nenhuma variável avaliada foi relacionada como fator de risco para resposta parcial à vacina.

Sabemos que o sorotipo HPV 16 é o mais frequentemente associado ao carcinoma cervical (BASEMAN; KOUTSKY, 2005). Assim, nossos resultados são favoráveis a indicação da vacina, visto que os níveis de anticorpos detectados para este subtipo apresentaram pouca variação entre os momentos avaliados no nosso estudo, apesar de ser o subtipo que apresentou maior falha de resposta primária. Já para o subtipo 18 a variação entre os níveis de anticorpos durante os momentos foi maior. Não sabemos o porquê desta diferença, se estaria relacionado à resposta individual, mesmo em sujeitos saudáveis ou ao estado de imunossupressão que este subtipo teria uma queda maior no decorrer do tempo.

É sabido, que, com o tempo algumas vacinas apresentam queda nos anticorpos produzidos, o que gera a necessidade de doses de reforço para uma proteção maior e mais eficaz (HEIJSTEK et al., 2014).

Cabe aqui, uma reflexão dos nossos resultados, apesar de não ter sido possível identificar fatores relacionados a esta resposta parcial, precisamos propor esquemas vacinais mais efetivos para esta população em especial, será necessário administrar doses e esquemas diferenciados.

Quanto ao número de doses administradas, utilizamos o esquema de três doses da vacina tanto para os pacientes como para o grupo controle, apesar de atualmente o esquema vacinal proposto pelo país para indivíduos saudáveis é o de 2 doses da vacina, devido já ter sido comprovada sua eficácia em vários países (D'ADDARIO et al., 2017). Porém, para indivíduos com comprometimento imunidade,

o esquema preconizado passa a ser o de 3 doses com intervalo de 0,2 e 6 meses(SANKARANARAYANAN et al., 2016).

Apesar de ser de conhecimento a eficácia elevada da vacina bivalente para indivíduos saudáveis, estudos comprovam a eficácia por mais de 8 anos contra as infecções por HPV16/18(ROTELI-MARTINS et al., 2012), não podemos tecer qualquer comentário nesta direção. A avaliação de duração da resposta a longo prazo do nosso estudo ficou prejudicada, pelo número reduzido de participantes que finalizaram o estudo e pudessem ter avaliação de um ano após. Além de não encontrarmos estudos a longo prazo desta vacina nesta população.

Importante também comentar sobre as limitações encontradas no nosso estudo, além da relatada acima. Reconhecemos, por exemplo, que o acompanhamento ginecológico das participantes teria agregado dados relevantes, auxiliando no rastreamento de possíveis infecções prévias HPV, correlacionar com a presença de títulos de anticorpos no nível basal anterior a vacina.

O principal fator limitante para tecer conclusões mais apropriadas está relacionado ao número de descontinuidades, ou seja, pacientes que não completaram o protocolo do estudo em todas as suas etapas. Porém sabemos que estudos nesta população de pacientes com LESJ, envolvendo grande número de participantes são escassos, principalmente pela dificuldade de uniformização de grupos, devido a apresentação e gravidade da doença serem muito variáveis, exatamente o que foi observado no estudo. Além deste fato que é geral a qualquer serviço de atendimento de reumatologia pediátrica, vale ressaltar as dificuldades de acesso desta população ao serviço público, o nível socioeconômico baixo, poucos centros de atendimento da especialidade, demanda grande, oriundos de várias localidades remotas, transporte público insuficiente, o que acarreta em baixa aderência tratamento e faltas frequentes. Esta observação, lamentavelmente reflete a situação real de atendimento da especialidade nos serviços em hospitais terciários, o mesmo repetiu-se em todos centros participantes.

Todos estes fatores influenciaram a ausência e falta às visitas agendadas e programadas pelo protocolo do estudo. Assim, para seguir com rigidez o protocolo, muitos pacientes foram excluídos da análise de imunogenicidade.

A partir dos nossos resultados, apesar de não ter sido observada diferenças significantes entre a administração de 2 ou 3 doses para controles que apresentaram resposta completa já após segunda dose, para as pacientes seria adequado

realmente a indicação de 3 doses, na tentativa de garantir resposta completa e mais duradoura. Ainda são necessários mais estudos para afirmativas mais assertivas quanto ao esquema vacinal ideal.

Acreditamos que os dados deste estudo possam incrementar a vacinação em pacientes com doenças autoimunes, diminuindo assim o risco de infecções mortais e morbidade referentes a complicações causadas pelo HPV.

A partir de abril de 2017, após solicitação da Sociedade Brasileira de Reumatologia(SBR), baseada nos nossos resultados, o PNI passa a incluir as pacientes com DAI como beneficiárias da vacina HPV, na faixa etária de 9-26 anos, o que era apenas privilégio, até então, das mulheres portadoras de HIV. Consideramos essa mudança do calendário como uma conquista para essas pacientes que desta forma tenham uma maior e mais adequada cobertura vacinal, nosso estudo pode corroborar para essa decisão do PNI (“Nota informativa nº311 2016/CGPNI/DEVIT/SVS/MS”, 2016).

8. Conclusão

8. CONCLUSÃO

A vacinação contra HPV parece ser imunogênica para o grupo de pacientes com LESJ ou DMJ, porém parte delas apresentam uma resposta parcial à vacina, com resposta efetiva a apenas um dos sorotipos avaliados (16 ou 18).

Nenhum fator de risco foi identificado como influencia nos diferentes padrões de resposta à vacina, considerando as variáveis: idade, tipo e atividade da doença e medicações em uso.

Ainda não podemos traçar conclusões definitivas sobre a necessidade de doses diferenciadas da vacina anti-HPV ou se haveria melhor momento para vacinar este grupo de pacientes.

Mais estudos randomizados, incluindo um número maior de pacientes, comparando esquemas vacinais e com seguimento a longo prazo poderão trazer a resposta a estas questões tão importantes para efetivamente garantir proteção destas pacientes em especial.

Referências

REFERÊNCIAS

ABBAS ABUL K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. [s.l.: s.n.]. v. 6^a ed.

AYTAC, M. B. et al. Hepatitis B vaccination in juvenile systemic lupus erythematosus. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 29, n. 5, p. 882–886, 2011.

BARBER, C.; GOLD, W. L.; FORTIN, P. R. Infections in the lupus patient: perspectives on prevention. **Current opinion in rheumatology**, v. 23, n. 4, p. 358–365, 2011.

BASEMAN, J. G.; KOUTSKY, L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. **Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 32 Suppl 1, p. S16-24, 2005.

C., C. et al. **Human papillomavirus vaccination and risk of autoimmune diseases: A large cohort study of over 2 million young girls in France** *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 2016. Disponível em: <<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emex&NEWS=N&AN=613821841>>

CHAO, C. et al. Surveillance of autoimmune conditions following routine use of quadrivalent human papillomavirus vaccine. **Journal of Internal Medicine**, v. 271, n. 2, p. 193–203, 2012.

CUCHACOVICH, R.; GEDALIA, A. Pathophysiology and clinical spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. **Rheumatic diseases clinics of North America**, v. 35, n. 1, p. 75–93, 2009.

D'ADDARIO, M. et al. Two-dose schedules for human papillomavirus vaccine: Systematic review and meta-analysis. **Vaccine**, 2017.

DOORBAR, J. **The papillomavirus life cycle** *Journal of Clinical Virology*, 2005.

EGAWA, N. et al. **Human papillomaviruses; Epithelial tropisms, and the development of neoplasia** *Viruses*, 2015.

FERLAY J. SOERJOMATARAM I. DIKSHIT R., ESER S., AND MORTALITY WORLD WIDE: IARC CANCERBASE, E. M. **Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11**. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr>>.

FERREIRA, I.; ISENBERG, D. Vaccines and biologics. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 73, n. 8, p. 1446–1454, 2014.

G., N. et al. **Multiple HPV-Induced Squamous Cell Carcinomas on the Fingers of a Patient with Systemic Lupus Erythematosus: A Case and Review** *Case Reports in Dermatology*, 2015. Disponível em: <<http://content.karger.com/ProdukteDB/produkte.asp?Aktion=ShowPDF&ArtikelNr=279320&Ausgabe=253812&ProduktNr=239061&filename=279320.pdf%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed13&NEWS=N&AN=2016>>

0083115>

GREIN, I. H. R. et al. HPV infection and vaccination in Systemic Lupus Erythematosus patients: what we really should know. **Pediatric Rheumatology**, v. 14, n. 1, p. 12, 2016.

HEIJSTEK, M. W. et al. Immunogenicity and safety of the bivalent HPV vaccine in female patients with juvenile idiopathic arthritis: a prospective controlled observational cohort study. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 73, n. 8, p. 1500–7, 2014.

INFORME TÉCNICO DA VACINA PAPILOMAVÍRUS HUMANO 6, 11, 16 E 18 (RECOMBINANTE). , 2015. Disponível em:

<http://saude.es.gov.br/Media/sesa/PEI/Informe_Tecnico_Vacina_HPV_1_dose_2015.pdf>

KANODIA, S.; FAHEY, L. M.; KAST, W. M. Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. **Curr Cancer Drug Targets**, v. 7, p. 79–89 ST–Mechanisms used by human papillomaviru, 2007.

LIZANO, M.; BERUMEN, J.; GARCÍA-CARRANCÁ, A. **HPV-related Carcinogenesis: Basic Concepts, Viral Types and Variants** **Archives of Medical Research**, 2009.

LYRIO, L. D. C. et al. Prevalence of cervical human papillomavirus infection in women with systemic lupus erythematosus. **Rheumatology International**, v. 33, n. 2, p. 335–340, 2013.

MARKOWITZ, L. E. et al. Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 56, p. 1–24, 2007.

MARLOE W. HEIJSTEK, MIRTE SCHERPENISSE, NOORTJE GROOT, NICO M. WULFFRAAT AND FIONA R.M, V. DER K. Immunogenicity of the Bivalent Human Papillomavirus Vaccine in Adolescents with juvenile Systemic Lupus Erythematosus or juvenile Dermatomyositis. **The Journal of Rheumatology**, [s.d.].

MCHEYZER-WILLIAMS, L. J.; MCHEYZER-WILLIAMS, M. G. Antigen-specific memory B cell development. **Annual review of immunology**, v. 23, n. 9, p. 487–513, 2005.

MILLER, A. V.; RANATUNGA, S. K. M. **Immunotherapies in Rheumatologic Disorders** **Medical Clinics of North America**, 2012.

MOK, C. C. et al. Immunogenicity and safety of a quadrivalent human papillomavirus vaccine in patients with systemic lupus erythematosus: a case-control study. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 72, n. 5, p. 659–664, 2013.

MUNOZ, N. et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, p. 518–527, 2003.

MUÑOZ, N. Human papillomavirus and cancer: The epidemiological evidence. **Journal of Clinical Virology**, v. 19, n. 1–2, p. 1–5, 2000.

MURPHY, K. M.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. **Janeway Immunology**. [s.l.: s.n.]. v. 7. Aufl.

NIKOLAKIS, G. et al. Multiple HPV-Induced Squamous Cell Carcinomas on the Fingers of a Patient with Systemic Lupus Erythematosus: A Case and Review. **Case Rep Dermatol**, v. 7, p. 329–334, 2015.

Nota informativa conjunta n° 01/2015-CGONI/DEVIT-DST/AIDS/SVS/MS. , 2015. Disponível em: <<http://aids.saude.pa.gov.br/wp-content/uploads/2015/03/Nota-informativa-conjunta-01-2015-Vacina-HPV-MS.pdf>>

Nota informativa n°311 2016/CGPNI/DEVIT/SVS/MS. Ministerio da Saude, , 2016. Disponível em: <<https://sbim.org.br/images/files/nota-informativa-311.pdf>>

ORTIGOSA, L. C. M.; REIS, V. M. S. DOS. Dermatomiosite TT - Dermatomyositis. **An Bras Dermatol**, v. 83, n. 3, p. 247–259, 2008.

PELLEGRINO, P.; RADICE, S.; CLEMENTI, E. **Immunogenicity and safety of the human papillomavirus vaccine in patients with autoimmune diseases: A systematic review****Vaccine**, 2015.

RAMOS-CASALS, M. et al. Acute viral infections in patients with systemic lupus erythematosus: Description of 23 cases and review of the literature. **Medicine**, v. 87, n. 6, p. 311–318, 2008.

ROJO-CONTRERAS, W. et al. Cervical human papillomavirus infection in Mexican women with systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis. **Lupus**, v. 21, n. 4, p. 365–72, 2012.

ROTELI-MARTINS, C. M. et al. Sustained immunogenicity and efficacy of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine: up to 8.4 years of follow-up. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 8, n. 3, p. 390–397, 2012.

RUBIN, L. G. et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 58, n. 3, p. 309–318, 2014.

SANKARANARAYANAN, R. et al. Immunogenicity and HPV infection after one, two, and three doses of quadrivalent HPV vaccine in girls in India: A multicentre prospective cohort study. **The Lancet Oncology**, v. 17, n. 1, p. 67–77, 2016.

SCHEURER, M. E.; TORTOLERO-LUNA, G.; ADLER-STORTHZ, K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 15, n. 5, p. 727–46, 2005.

SCHILLER, J. T.; CASTELLSAGUÉ, X.; GARLAND, S. M. **A review of clinical trials of human papillomavirus prophylactic vaccines****Vaccine**, 2012.

SHAW, A. R. Human papillomavirus vaccines six years after approval. **Annual**

review of medicine, v. 64, p. 91–100, 2013.

SOUSA, S. et al. Efficacy and Safety of Vaccination in Pediatric Patients with Systemic Inflammatory Rheumatic Diseases: a systematic review of the literature. **Acta reumatologica portuguesa**, 2016.

SOYBILGIC, A. et al. Safety and immunogenicity of the quadrivalent HPV vaccine in female Systemic Lupus Erythematosus patients aged 12 to 26 years. **Pediatric rheumatology online journal**, v. 11, n. 1, p. 29, 2013.

WALBOOMERS, J. M. M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **Journal of Pathology**, v. 189, n. 1, p. 12–19, 1999.

WRAITH, D. C.; GOLDMAN, M.; LAMBERT, P.-H. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? **The Lancet**, v. 362, n. 9396, p. 1659–1666, 2003.

ANEXOS A - Parecer consubstanciado do CEP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DE
RIBEIRÃO PRETO DA USP -

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo de segurança e imunogenicidade da Vacina HPV em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LESJ) e dermatomiosite juvenil (DMJ)

Pesquisador: Gecilmara Cristina Salviato Pileggi

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 30502014.4.1001.5440

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 723.536

Data da Relatoria: 14/07/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo de coorte observacional prospectivo multicêntrico a ser desenvolvido por Gecilmara Salviato Pileggi, Serviço de alergia, imunologia e reumatologia pediátrica do departamento de puericultura e pediatria do HCFMRP - USP.

A justificativa do estudo: Em marco deste ano, a vacina contra o Vírus do Papiloma Humano (HPV) foi adicionada ao Programa Nacional de Imunização (PNI). A vacina bivalente (Cervarix®) confere proteção contra os tipos 16 e 18 do HPV, que causam cerca de 75% dos cânceres de colo de útero. A vacina quadrivalente (Gardasil®) confere proteção não apenas contra os tipos 16 e 18, mas também contra os tipos 6 e 8 do HPV, que causam o condiloma acuminado. Os estudos mostram que ambas as vacinas são eficazes em pacientes saudáveis, na prevenção da infecção pelo HPV 16 e 18. No entanto, acredita-se que a resposta imune à vacinação possa ser menor em indivíduos com doenças autoimunes, tanto devido à terapia imunossupressora quanto à doença de base.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo: O principal objetivo deste estudo é determinar a imunogenicidade da vacinação contra o HPV em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico juvenil (LESJ) e Dermatomiosite juvenil (DMJ).

Objetivos secundários: explorar os mecanismos celulares induzidos pela vacinação em um subgrupo de pacientes e a segurança da vacina neste grupo especial de pacientes com doenças autoimunes.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 723.536

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora:

Riscos: inconvenientes para os pacientes: 4 visitas hospitalares em 12 meses (que é o esquema usual de visitas para a maioria dos portadores de DMJ e LESJ), onde serão obtidos: História, Exame físico e Coleta de 5mL de sangue (aos 0 e 7 meses, um subgrupo de até 20 pacientes fornecerão até 20mL para análise imunológica) preencher um Diário para registrar eventos adversos após a vacinação. Inconvenientes para os controles saudáveis: 2 visitas hospitalares em 12 meses Coleta de até 20 ml de sangue para os participantes com programação de coleta aos 0 e 7 meses. Coleta de até 5 ml de sangue para os participantes com programação de coleta aos 0 e 3 ou 12 meses.

Riscos: possibilidade de equimoses pela coleta de sangue. Benefícios: Proteção contra papillomavirus infection humano e, portanto, redução do risco de carcinoma colo do útero.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo de coorte observacional prospectivo multicêntrico com do seguimento clínico de 1 ano após o início da vacinação contra HPV. O centro coordenador é o Departamento de Reumatologia Pediátrica do HCFMRP-USP. Os outros centros participantes serão: Instituto Criança e HCFMSP-USP; faculdade de medicina UNICAMP; faculdade de Medicina UNESP- Botucatu; Hospital Pequeno Príncipe – Curitiba-PR; Universidade Federal do Rio de Janeiro; Universidade Federal de Pernambuco. O estudo ocorrerá juntamente com a Campanha Nacional de vacinação contra HPV. Este estudo não irá influenciar nem alterar os procedimentos de rotina relativos ao programa de vacinação.

População do estudo será constituída por dois grupos:

- 1) Grupo dos pacientes: sexo feminino, 11 a 18 anos, indivíduos com diagnóstico de Lúpus eritematoso sistêmico juvenil ou Dermatomiosite juvenil antes dos 17 anos e antes da primeira vacinação contra HPV, indivíduos que receberam ou estão recebendo a vacina contra HPV, pelo Programa nacional de vacinação ou de outro modo. Todas as medicações prescritas podem ser continuadas.
- 2) Grupo Controle: sexo feminino, 11-18 anos, que não tiveram o diagnóstico de nenhum distúrbio autoimune, que estão recebendo a vacina contra HPV, pelo Programa nacional de vacinação ou de outro modo. Critérios de exclusão: não fornecimento do termo de consentimento informado pelos pais ou discordância da criança, recusa quanto a punções venosas e história de carcinoma de colo de útero suspeito ou comprovado.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
 UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
 Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DE
RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 723.536

Recrutamento: pretende-se incluir pacientes com LESJ (n=20), DMJ (n=10) e pacientes controles (n=30). Os participantes do Grupo de pacientes serão identificados pela equipe de pesquisa nos serviços de reumatologia pediátrica dos centros. Antes da consulta com o reumatologista, eles receberão um convite para participarem. As informações fornecidas por escrito são explicadas durante esse encontro por membro da equipe da pesquisa para os pacientes e seus pais. Os participantes do grupo controle, que poderão ser amigas ou parentes das pacientes, nesta mesma faixa etária, que não apresentem condições autoimunes conhecidas serão convidados a participar. Como também, ocorrerá através de uma campanha de recrutamento no hospital para filhas de funcionários.

Procedimentos:

1) Vacinação: todas as participantes, pacientes e controles saudáveis, receberão as vacinas contra HPV em 0, 1 ou 2 e 6 meses, ou no esquema de 0 e 6 meses, conforme faixa etária e disponibilidade das doses no CRIE local. Os pacientes participantes receberão um diário padronizado de eventos adversos, para avaliar os possíveis eventos adversos após cada dose da vacina.

2) Amostras: um tubo de sangue (até 5 ml) será coletado na visita basal e após 3, 7 e 12 meses para determinação dos níveis de anticorpos em todos os participantes. Em um subgrupo de participantes, 15 a 20 ml de sangue serão obtidos na visita basal e após 3, 7 ou 12 meses para análises imunológicas adicionais.

Quando a visita é agendada para 7 meses depois, caso o participante tenha recebido 3 vacinas contra HPV, ele deverá fornecer mais 15 a 20 ml de sangue, que serão usados para análise da resposta celular à vacina.

Nos outros momentos, é necessária coleta de 5 ml de sangue, já que apenas a resposta sorológica será medida. Os pacientes serão avaliados antes da vacinação e 3, 7 e 12 meses após a mesma. Em todos esses momentos, serão coletados até 5 ml de sangue para análise sorológica. Os efeitos adversos serão medidos usando um diário de efeitos colaterais por 2 semanas após cada vacinação.

3) Visitas: nos pacientes, a atividade da doença e o uso de medicações serão determinados durante as consultas ambulatoriais (basal, 3, 7 e 12 meses) como parte do seguimento de rotina dos pacientes. Como a maioria dos pacientes são avaliados regularmente cada 3 meses, não são necessárias outras consultas. Qualquer paciente que não tenha uma rotina de consultas será convocado para uma consulta extra em nosso centro. Os controles serão submetidos a coletas de sangue em dois momentos: antes da vacinação (basal) e após 7 ou 12 da vacinação.

4) Exames laboratoriais: determinação dos anticorpos contra HPV e neutralizadores do HPV nos participantes.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 723.536

Saída dos participantes do estudo: os participantes podem deixar o estudo a qualquer momento e por qualquer razão se desejarem, sem quaisquer consequências. O investigador pode decidir remover um participante do estudo por razões clínicas urgentes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos:

Projeto de pesquisa versão 3 de 12/07/2014;
TCLE Assentimento controles versão 3 de 12/07/2014;
TCLE Assentimento versão 3 de 12/07/2014;
TCLE responsáveis versão 3 de 12/07/2014;
Cartaz de recrutamento;
Folheto de informações pais/responsáveis.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa versão 3 de 12/07/2014, assim como os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido: TCLE Assentimento controles versão 3 de 12/07/2014, TCLE Assentimento versão 3 de 12/07/2014, TCLE responsáveis versão 3 de 12/07/2014 e, Cartaz de recrutamento e Folheto de informações pais/responsáveis, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 723.536

RIBEIRAO PRETO, 21 de Julho de 2014.

Assinado por:
MARCIA GUIMARAES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

ANEXO B- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aos Pais das Pacientes

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.usp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – PAIS DAS PACIENTE

Prezado(a) senhor(a), sua filha está sendo convidada a participar de um estudo denominado:
“Estudo de segurança e imunogenicidade à Vacina contra Papiloma Vírus Humano (HPV) em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LES) e Dermatomiosite Juvenil (DMJ).”

O lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LES) e a Dermatomiosite Juvenil (DMJ) são doenças graves que atingem múltiplos órgãos e sistemas do organismo e que diminui a capacidade de defesa para as infecções. Os medicamentos que são usados para tratamento destas doenças, na maioria, também podem diminuir a resposta do organismo às infecções e vacinas.

A vacina contra papiloma vírus (HPV) protege contra a infecção por este vírus, que é responsável pela maioria dos cânceres de colo de útero nas mulheres, assim esta vacina ajuda a proteger contra o desenvolvimento do câncer de colo de útero. No Brasil, esta vacina passou a ser aplicada em todas as meninas com idade entre 11 e 13 anos a partir de abril de 2014, sendo ampliada para a faixa etária de 9 a 13 anos em 2015, visto que o ideal é que a vacinação ocorra antes do início da vida sexual.

Porque fazer este estudo?

Trata-se de um estudo em crianças e adolescentes do sexo feminino com as doenças autoimunes Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e Dermatomiosite Juvenil (DMJ) para avaliar se as pacientes com estas doenças são capazes de responder à vacina, ou seja, ficará adequadamente protegida contra papiloma vírus, e, se podemos vaciná-las realmente com segurança.

Sabe-se que pessoas que apresentam doenças autoimunes podem ter resposta inadequada à vacinas, ou seja, não atingir a proteção necessária, quando comparadas com pessoas saudáveis. Queremos saber se isso acontece com a vacina contra HPV.

Para isso, este estudo precisa de incluir voluntários saudáveis, como sua filha, para comparar a resposta do sistema imune frente à vacinação contra HPV entre meninas saudáveis e meninas com LES e DMJ.

Em geral, as vacinas não aumentam os sinais e sintomas do LES ou da DMJ. Neste estudo, serão coletadas informações sobre a atividade da doença antes e após a vacinação, para garantir que isso também é válido para a vacina contra HPV.

Como será feito o estudo?

Se concordarem em participar do estudo, antes da vacinação, as pacientes responderão a um breve questionário, será revisado a carteira de imunização e o exame físico.

Em cada visita do estudo, antes da vacinação, 3, 7 e 12 meses depois da primeira dose da vacina, serão realizados exames de sangue (4 coletas por punção de veia periférica).

O volume de sangue coletado será de 5 mL, o que corresponde a uma colher de chá. Para coletar o sangue será necessária uma picada de agulha na veia, o que pode doer um pouco e pode deixar uma marca roxa no braço. A coleta de sangue dura menos de 5 minutos. Todos os procedimentos acima serão agendados para coincidirem com os exames periódicos de rotina dos pacientes com estas doenças e em uso de medicação. Nestas amostras de sangue será avaliada a resposta a vacina para HPV.

Além disso, nas 4 visitas, que provavelmente será no mesmo dia da consulta de rotina, também serão feitas várias perguntas à sua filha a respeito da atividade da doença, que serão anotadas para podermos analisar depois. Esses procedimentos deverão durar cerca de 30 minutos no total. Caso sua filha não tenha uma rotina de consultas agendadas, nós organizaremos horários para as visitas ao hospital, da forma mais conveniente para você.

Em um pequeno número de pacientes, que aceitarem sua participação nesta avaliação da imunidade adicional, precisaremos obter mais 10 ml de sangue (2 colheres de chá) em vez de 5ml, durante a primeira (antes) e a terceira visita (7 meses). Isso permitirá uma análise da resposta a vacina mais aprofundada do sistema imune do sangue.

Além disso, após cada aplicação da vacina, as pacientes receberão um diário e pediremos que preencham durante 2 semanas após cada vacinação, para registrar quaisquer efeitos colaterais. Possíveis efeitos colaterais comuns às vacinas em geral, incluem dor e vermelhidão no local da aplicação. Tanto os eventuais efeitos adversos quanto a doença estarão sendo monitorados atentamente e serão prontamente tratados.

Existem riscos para os participantes do estudo?

A dor durante a punção é o único desconforto da coleta e da aplicação da vacina.

Sua filha não corre riscos de sua doença piorar por causa do uso da vacina. Existem estudos que atestam a segurança desta vacina, e ela é aprovada no Brasil pela ANVISA, mas mesmo assim existe a possibilidade do surgimento de efeitos colaterais relacionados ao uso de vacinas em geral. Nestes casos, o médico responsável poderá e deverá ser contatado imediatamente, pelos telefones fornecidos neste documento.

Quais os benefícios do estudo?

Para a paciente o benefício de receber uma vacina indicada para crianças e adolescentes de sua idade. No final do estudo esperamos poder concluir se a vacina estará indicada para este grupo de pacientes com LES e DMJ, se há resposta adequada e se é segura, passando a tornar-se uma indicação para estes pacientes.

Sou obrigado a participar do estudo?

O(a) senhor(a) tem o direito de não autorizar sua filha a participar deste estudo ou mesmo parar de participar em qualquer momento que desejar sem que isso prejudique a continuidade do seu atendimento de qualquer maneira, ou sofra qualquer tipo de advertência ou retaliação.

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento na instituição.

A identidade da minha filha será preservada?

Em nenhum momento durante a realização do estudo, ou durante a divulgação dos resultados do estudo, a identidade da sua filha será revelada. Todas as providências serão tomadas para evitar que informações a respeito dela sejam extraviadas ou obtidas ilegalmente por alguém, incluindo o uso de um banco de dados em computador, protegido por vários mecanismos de segurança.

Todas as informações serão mantidas em sigilo. Elas serão mantidas anônimas através do uso de um código. Os dados anônimos serão mantidos em segurança, em um computador protegido por senha. Uma lista com a identificação dos códigos será mantida em segurança. Apenas pessoas envolvidas neste estudo terão acesso a esses dados. Os resultados serão publicados em revistas científicas e apresentados em conferências e discussões. Eles também serão compartilhados com os pacientes. O paciente tem direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa.

Quem é o responsável pelo estudo?

A principal responsável pelo estudo é a Dra. Gecilmara Salviato Pileggi, que pode ser encontrada nos telefones Tel 36022576/16 996240329. Em qualquer época do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa, para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Eu, na qualidade de pesquisadora, assumo o compromisso de utilizar o material coletado somente para esta pesquisa.

Ressarcimento de despesas

Não há despesas pessoais para a participante, em qualquer fase do estudo, incluindo exames, consultas e vacinas. Sendo a participação voluntária, não terá ressarcimento e nem compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Caso sua filha precise comparecer ao Hospital das Clínicas somente para fins de pesquisa, será oferecido vale transporte e alimentação, na forma de lanche ou almoço, o que for mais adequado. Caso o(a) senhor(a) tenha realizado algum gasto com transporte ou alimentação relacionados à sua participação neste estudo, o senhor terá direito a ressarcimento, no mesmo valor dos gastos efetuados.

Informações adicionais

Não está prevista nenhuma forma de compensação ou remuneração pela participação no estudo, de acordo com a Lei Brasileira. Os resultados deste estudo serão divulgados independente de suas conclusões a favor ou contra o uso desta vacina. A qualquer momento o(a) senhor(a) poderá

solicitar esclarecimentos adicionais sobre a participação da sua filha no estudo ou sobre o uso desta vacina, assim como acesso ao responsável caso ocorram algum evento adverso que será detalhado no diário que receberá após cada dose da vacina.

Em caso de dúvidas, durante ou após a participação no estudo, você ou qualquer membro de sua família poderá contatar os responsáveis pelo estudo, pessoalmente ou por telefone, com **Dra. Gecilmara Salviato Pileggi nos telefones Tel 36022576/16 996240329, com a Enfermeira Natália Balera Ferreira Pinto, no telefone 16 981479366.** Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas, para fazer perguntas, sugestões ou denúncias relacionadas a este estudo, pelo telefone 16-3602-2228.

Autorização para inclusão no estudo

Eu, _____, após ler este documento pessoalmente, e receber todas as informações necessárias e ter minhas dúvidas esclarecidas, e tendo conhecimento de todos os meus direitos, incluindo que receberei uma via deste documento, assinado e rubricado pelo participante e pelo pesquisador, autorizo voluntariamente a inclusão da minha filha no estudo.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

_____	_____
Nome do responsável	Assinatura

_____	_____
Nome do investigador	Assinatura

Termo de Assentimento

Eu, _____, aceito participar desta pesquisa, entendendo que terei que tomar uma vacina, e terei que tirar um pouco de sangue com agulha.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.usp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – ASSENTIMENTO

Nome: _____	
—	
Registro HC: _____	Vacinas HPV: _____
Código do estudo: _____	() I.S.
() LES ()	
DMJ	
Data de nascimento: _____	Data de Início Doença: _____
Endereço: _____	Bairro: _____
Complemento: _____	Cidade: _____
Telefone: _____	Celular: _____
Nome responsável: _____	

Você está sendo convidada a participar de um estudo denominado: “Estudo de segurança e imunogenicidade da Vacina HPV em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e dermatomiosite juvenil”.

O lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESJ) e a Dermatomiosite Juvenil (DMJ) são doenças graves que atingem múltiplos órgãos e sistemas do organismo e que diminui a capacidade de defesa para as infecções. Os medicamentos que são usados para tratamento destas doenças (corticoesteroides, azatioprina, metotrexato, ciclosporina, ciclofosfamida, micofenolato mofetil), na maioria, são imunossupressores, ou seja, embora melhorem a doença, também podem diminuir a resposta do organismo às infecções e vacinas.

A vacina contra papiloma vírus (HPV) protege contra a infecção por este vírus, que é responsável pela maioria dos cânceres de colo de útero nas mulheres, assim esta vacina ajuda a proteger contra o desenvolvimento do câncer de colo de útero. No Brasil, esta vacina passou a ser aplicada em todas as meninas com idade entre 9 e 13 anos a partir de abril deste ano, porque o ideal é que a vacinação ocorra antes do início da vida sexual.

Porque fazer este estudo?

Trata-se de um estudo em crianças e adolescentes do sexo feminino com as doenças

autoimunes Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e Dermatomiosite Juvenil (DMJ) para avaliar se as pacientes com estas doenças são capazes de responder à vacina, ou seja, ficará adequadamente protegida contra papiloma vírus, e, se podemos vaciná-las realmente com segurança.

Sabe-se que pessoas que apresentam doenças autoimunes podem ter resposta inadequada à vacinas, ou seja, não atingir a proteção necessária, quando comparadas com pessoas saudáveis. Queremos saber se isso acontece com a vacina contra HPV. Para isso, este estudo compara a resposta do sistema imune frente a vacinação contra HPV entre meninas saudáveis e meninas com LES e DMJ.

Em geral, as vacinas não aumentam os sinais e sintomas do LES ou da DMJ. Neste estudo, serão coletadas informações sobre a atividade da doença antes e após a vacinação, para garantir que isso também é válido para a vacina contra HPV.

Como será feito o estudo?

Se concordarem em participar do estudo, antes da vacinação, vocês responderão a um breve questionário, será revisada sua carteira de imunização e realizado o exame físico.

Em cada visita do estudo, antes da vacinação, 3, 7 e 12 meses depois da primeira dose da vacina, serão realizados exames de sangue (4 coletas por punção de veia periférica).

O volume de sangue coletado será de 5 mL, o que corresponde a uma colher de chá. Para coletar o sangue será necessária uma picada de agulha na veia, o que pode doer um pouco e pode deixar uma marca roxa no braço. A coleta de sangue dura menos de 5 minutos. Todos os procedimentos acima serão agendados para coincidirem com os exames periódicos de rotina dos pacientes com estas doenças e em uso de medicação. Nestas amostras de sangue será avaliada a resposta a vacina para HPV.

Além disso, nas 4 visitas, que provavelmente será no mesmo dia sua consulta de rotina, também serão feitas várias perguntas a respeito da atividade da doença, que serão anotadas para podermos analisar depois. Esses procedimentos deverão durar cerca de 30 minutos no total. Caso você não tenha uma rotina de consultas agendadas, nós organizaremos horários para as visitas ao hospital, da forma mais conveniente para você.

Se concordar, fazer parte de um pequeno número de participantes, que será feito uma avaliação da imunidade adicional, precisaremos obter mais 15 ml de sangue (3 colheres de chá) ao invés de 5ml, durante a primeira (antes) e a terceira visita (7 meses). Isso permitirá uma análise da resposta a vacina mais aprofundada do sistema imune do sangue.

Além disso, após cada aplicação da vacina, você receberá um diário e pediremos que preencha durante 2 semanas após cada vacinação, para registrar quaisquer efeitos colaterais. Possíveis efeitos colaterais comuns às vacinas em geral, incluem dor e vermelhidão no local da aplicação. Tanto os eventuais efeitos adversos quanto a doença estarão sendo monitorados atentamente e serão prontamente tratados.

Existem riscos para participar deste estudo?

A dor durante a punção é o único desconforto da coleta e da aplicação da vacina.

Você não corre riscos adicionais de sua doença piorar por causa do uso da vacina. Existem

estudos que atestam a segurança desta vacina, e ela é aprovada no Brasil pela ANVISA, mas, mesmo assim, existe a possibilidade do surgimento de efeitos colaterais relacionados ao uso de vacinas em geral. Nestes casos, você poderá contatar o médico responsável imediatamente, pelos telefones fornecidos neste documento.

Quais os benefícios do estudo?

O benefício de receber uma vacina indicada para crianças e adolescentes de sua idade. No final do estudo esperamos poder concluir se a vacina estará indicada para as pacientes com LES e DMJ como você, com resposta adequada e se é segura, passando a tornar-se uma indicação.

Sou obrigada a participar do estudo?

Você tem o direito de não querer participar deste estudo. É garantida também a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento na instituição.

A minha identidade será preservada?

Em nenhum momento durante a realização do estudo, ou durante a divulgação dos resultados do estudo, a sua identidade será revelada. Todas as providências serão tomadas para evitar que informações a seu respeito sejam extraviadas ou obtidas ilegalmente por alguém, incluindo o uso de um banco de dados em computador, protegido por vários mecanismos de segurança.

Todas as informações serão mantidas em sigilo. Elas serão mantidas anônimas através do uso de um código. Os dados anônimos serão mantidos em segurança, em um computador protegido por senha. Uma lista com a identificação dos códigos será mantida em segurança. Apenas pessoas envolvidas neste estudo terão acesso a esses dados. Os resultados serão publicados em revistas científicas e apresentados em conferências e discussões. Você tem direito de ser mantido atualizado sobre os resultados da pesquisa.

Quem é o responsável pelo estudo?

A principal responsável pelo estudo é a Dra. Gecilmara Salviato Pileggi, que pode ser encontrada nos telefones Tel 36022576 (dia)/16 996240329 (todo o período da pesquisa). Em qualquer época do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa, para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Eu, na qualidade de pesquisadora, assumo o compromisso de utilizar o material coletado somente para esta pesquisa.

Ressarcimento de despesas

Não há despesas pessoais para a participante, em qualquer fase do estudo, incluindo exames, consultas e vacinas. Sendo a participação voluntária, não terá ressarcimento e nem compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Caso você precise comparecer ao Hospital das Clínicas somente para fins de pesquisa, será

oferecido vale transporte e alimentação, na forma de lanche ou almoço, o que for mais adequado.

Informações adicionais

Não está prevista nenhuma forma de compensação ou remuneração pela participação no estudo, de acordo com a Lei Brasileira. Os resultados deste estudo serão divulgados independente de suas conclusões a favor ou contra o uso desta vacina. A qualquer momento você poderá solicitar esclarecimentos adicionais sobre a sua participação no estudo ou sobre o uso desta vacina, assim como acesso ao responsável caso ocorram algum evento adverso que será detalhado no diário que recebera após cada dose da vacina.

Em caso de dúvidas, durante ou após a participação no estudo, você ou qualquer membro de sua família poderá contatar os responsáveis pelo estudo, pessoalmente ou por telefone, **com Dra. Gecilmara Salviato Pileggi nos telefones Tel 36022576/16 996240329 ou com a Enfermeira Natália Balera Ferreira Pinto, no telefone 16 981479366.** Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas, para fazer perguntas, sugestões ou denúncias relacionadas a este estudo, pelo telefone 16-3602-2228.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____.

Nome do responsável	Assinatura

Nome do investigador	Assinatura

Termo de Assentimento

Eu, _____, aceito participar desta pesquisa, entendendo que terei que tomar uma vacina, e terei que tirar um pouco de sangue com agulha.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____.

Nome do paciente	Assinatura

ANEXO D- Relatório oficial de mortes ocorridas durante o projeto

Official report from Deaths had occurred during the Project “Immune response after Human Papillomavirus (HPV) vaccination in patients with autoimmune disease”

Ribeirão Preto, December 16th, 2016

PI: Profa. Drª Gecilmara Salviato Pileggi

Processo CEP: 0038/2014

Processo HCRP nº 5904/2014

This was a multicenter study, including 15 Brazilian sites units of Pediatric Rheumatology care, where 320 patients and 40 health controls were enrolled.

During the follow-up, we had register 4 deaths, all of them with no temporal correlation with vaccination and the deaths causes was related to another situation, as reported bellow by each site where it occurred.

I would to stressed my position as coordinator center, that this cases was seen carefully, individualized and discussed with Brazilian experts in adverse events following vaccination programs, who had concluded none was related to the vaccination, what means not necessary to report as that.

Indeed, the mortality rate of the childhood Lupus is more than 10% of the majority of the study groups that have been published lately. So, 4 death among 320 patients (1, 2%) is so far less than the mortality rate in this group of age with this disease.

Int J Rheum Dis. 2016 Oct;19(10):974-980. doi: 10.1111/1756-185X.12807.

The association between initial manifestations of childhood-onset systemic lupus erythematosus and the survival.

Fatemi A1, Matinfar M2, Saber M3, Smiley A4.

Gecilmara

Gecilmara Pileggi, MD PhD

Pediatric rheumatologic unit HCFMRP-US

Coordinator HPV project brazil

MEDICAL REPORT: Hospital Infantil Albert Sabin – Fortaleza, Brazil

Fortaleza, December 6th 2016

The patient codifying as HIASLES022 in the Project “**Immune response after Human Papillomavirus vaccination in patients with autoimmune disease**” passed away due to secondary sepsis after disseminated infection of cutaneous lupus lesions. The patient had presented difficult control of these cutaneous lesions.

The death occurred 4 months after the second dose of the HPV vaccine. No sign of clinical or laboratorial worsening of disease was noted after both doses. The patient’s cutaneous disease had initially improved with Dapsone, and its worsening was related to the medication interruption by the family.

Sincerely,

Luciana Brandão Paim Marques
Head of the Pediatric Rheumatology Department

MEDICAL REPORT: Rio de Janeiro State University – Rio de Janeiro, Brazil

Rio de Janeiro, December 9th 2016

The patient codifying as RJLES36, participant in the Project “**Immune response after Human Papillomavirus vaccination in patients with autoimmune disease**” passed away on December 1 2015, at the ICU of our Hospital due to hemorrhagic stroke. The patient had been admitted at the inpatient clinic on October 5 2015 with acute renal insufficiency, and various hemodialysis sessions were performed during her treatment. On November 26th, she presented an important fourth ventricular and parenchyma brain bleeding, responsible for her death on December 1st.

The patient had had a satisfactory evolution until the outpatient clinic on August 24th 2015, when a SLE flare was diagnosis in association with systemic arterial hypertension. On that moment she was treated for both conditions.

The first dose of HPV vaccine was performed on September 14th 2015, after the worsening of the patient. She hadn't received any further HPV dose.

Our opinion is that the HPV vaccination didn't contribute to the worsening of our patient and neither for her death, and that her death was due to the invasive procedures that she had been submitted to. In addition, there was not a temporal relation between the vaccination and the death.

Interestingly, at the same time, the mother of our patient was submitted to a surgery due to a brain aneurism. Unfortunately, it was not possible to perform a necropsy in our patient to investigate if our patient had also an aneurism, although she hasn't presented any symptoms of it.

Sincerely,

Flavio Sztajnbok
Head of the Pediatric Rheumatology Department

MEDICAL REPORT: Campinas State University (UNICAMP) – Campinas, BrazilCampinas, December 15th 2016

The patient codifying as CALES014 in the Project “**Immune response after Human Papillomavirus vaccination in patients with autoimmune disease**” passed away due to pulmonary thromboembolism. The patient had had active disease with inadequate control of nephrotic syndrome, despite the use of Rituximab.

The death occurred 14 months after the second dose of the HPV vaccine. No sign of clinical or laboratorial worsening of disease was noted after both doses. The patient was excluded from the HPV study when Rituximab was initiated for control of her disease.

Sincerely,

Simone Appenzeller
Head of the Pediatric Rheumatology Department