

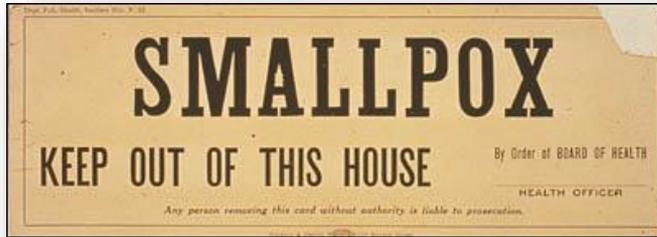
# Varíola: erradicada, mas não esquecida

**Clarissa Damaso**



Laboratório de Biologia Molecular de Vírus  
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho –UFRJ  
Bloco C – sala C1-028 damasoc@biof.ufrj.br





# Porque a história da varíola e da vacina antivariólica ainda desperta tanto fascínio?

- ✓ A varíola foi um dos grandes males da humanidade
- ✓ É a primeira e única doença humana até hoje erradicada
- ✓ A vacina antivariólica é a primeira vacina da história da humanidade
- ✓ Há muitos mistérios sobre o real “componente” das vacinas antivariólicas antigas
- ✓ As relações evolutivas das cepas de vacina antivariólica são pouco conhecidas



# Poxviridae

Subfamília	Gênero	Espécies (vírus)
<i>Chordopoxvirinae</i>	<i>Orthopoxvirus</i> ★	camelpox, ectromelia, raccoonpox, volepox, monkeypox, <u>varíola</u> , cowpox, vaccinia, horsepox
	<i>Parapoxvirus</i>	orf, pseudocowpox (milker's nodules)
	<i>Avipoxvirus</i>	canarypox, fowlpox, penguinpox, quailpox
	<i>Capripoxvirus</i>	goatpox, sheeppox, lumpy skin disease
	<i>Leporipoxvirus</i>	myxoma, rabbit fibroma
	<i>Suipoxvirus</i>	swinepox
	<i>Cervidpoxvirus</i>	deerpoxvirus
	<i>Molluscipoxvirus</i>	molluscum contagiosum
	<i>Yatapoxvirus</i>	tanapox, yaba monkey tumor
	<i>Crocodylidpoxvirus</i>	Nile crocodilepox
<i>Centapoxvirus</i>	Yokapox	
	<i>não classificados</i>	Cotia, Pteropox

## *Entomopoxvirinae*



# Poxviridae

**Subfamília**

**Gênero**

**Espécies (vírus)**

*Chordopoxvirinae*

*Orthopoxvirus* ★

camelpox, ectromelia, raccoonpox,  
volepox, monkeypox, varíola, cowpox,  
vaccinia, horsepox

- **Mais notório:** vírus da varíola → doença exclusivamente humana
- **Mais estudado (protótipo do gênero):** vírus vaccinia
- Apresentam antigenicidade cruzada → protegem contra infecção por outro Orthopoxvírus.



# Poxviridae

**Subfamília**

**Gênero**

**Espécies (vírus)**

*Chordopoxvirinae*

*Orthopoxvirus* ★

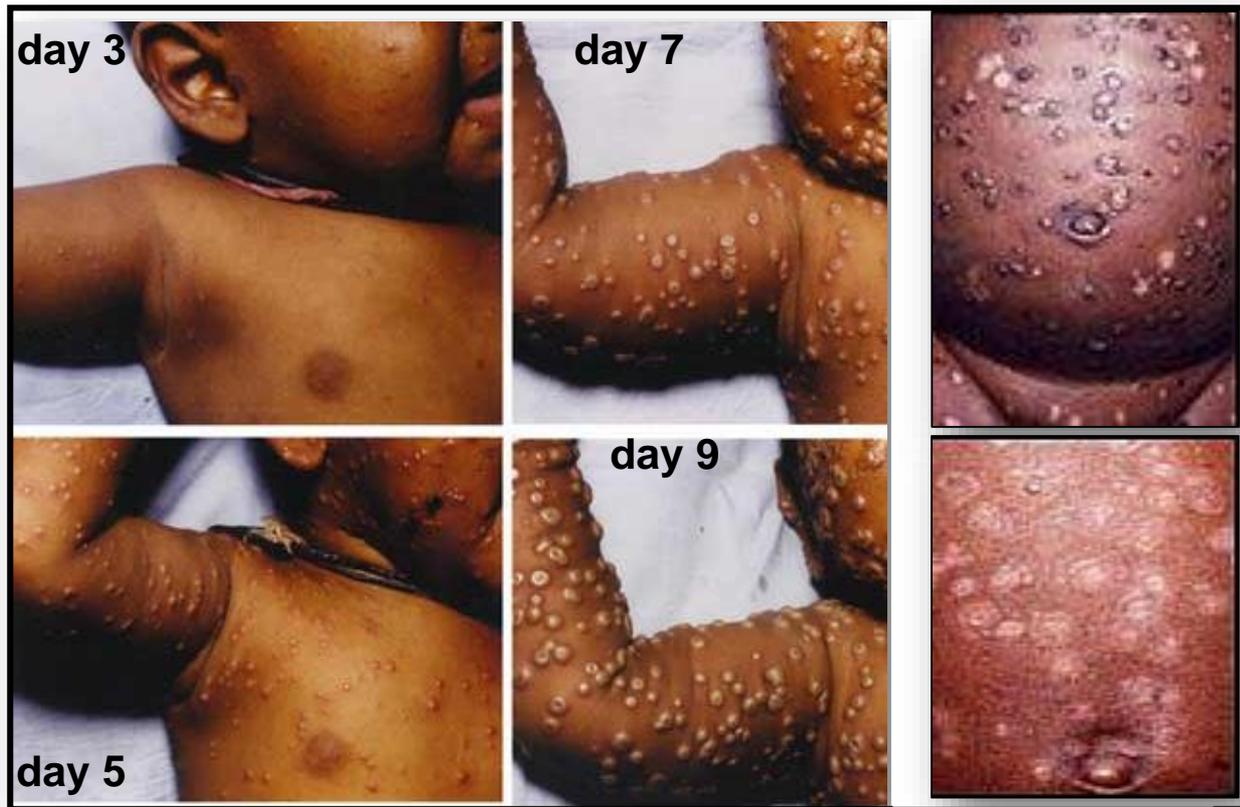
camelpox, ectromelia, raccoonpox,  
volepox, monkeypox, varíola, cowpox,  
vaccinia, horsepox

## Vírus vaccinia, vírus cowpox e vírus horsepox

- são vírus diferentes! (horsepox 🤔 )
- todos têm capacidade de infectar vacas, homens e cavalos, gerando lesões similares. Hospedeiro natural: roedores.



# Variola major



WHO

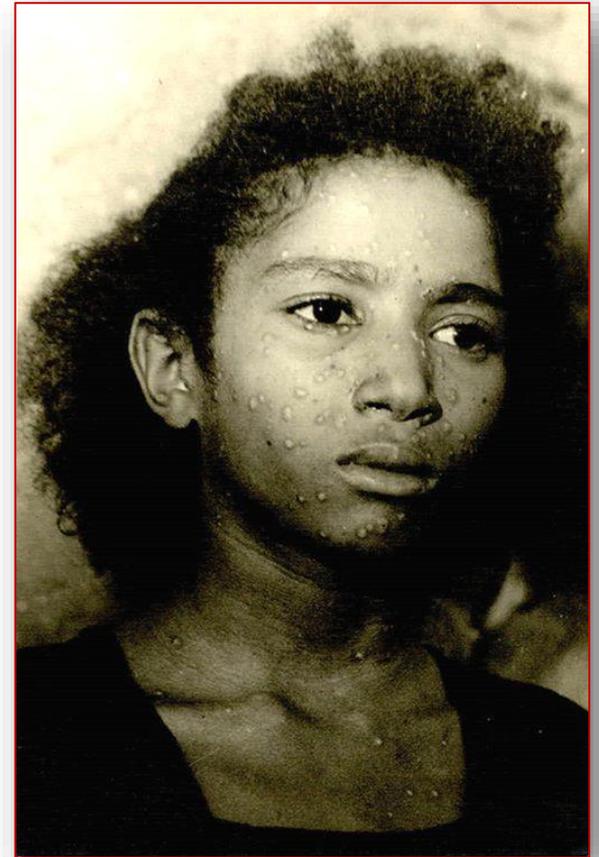
WHO

- virose pústulo-vesicular de manifestação sistêmica
- exclusivamente humana, sem reservatórios.
- Taxa de caso-fatalidade ~ 30% (variola major)
- Cepa India, 1967      40 - 50%



# Variola minor - Alastrim

- Menos severa que a infecção por varíola major
- Taxa de caso-fatalidade < 1%
- Brasil, África, Caribe, Flórida (EUA)



COC-Fiocruz



## Varíola - Primeiros relatos na História

- Egito, 1100 AC



Múmيا do Faraó Ramsés V (morto em 1157 AC).

Lesões possivelmente decorrentes da varíola.

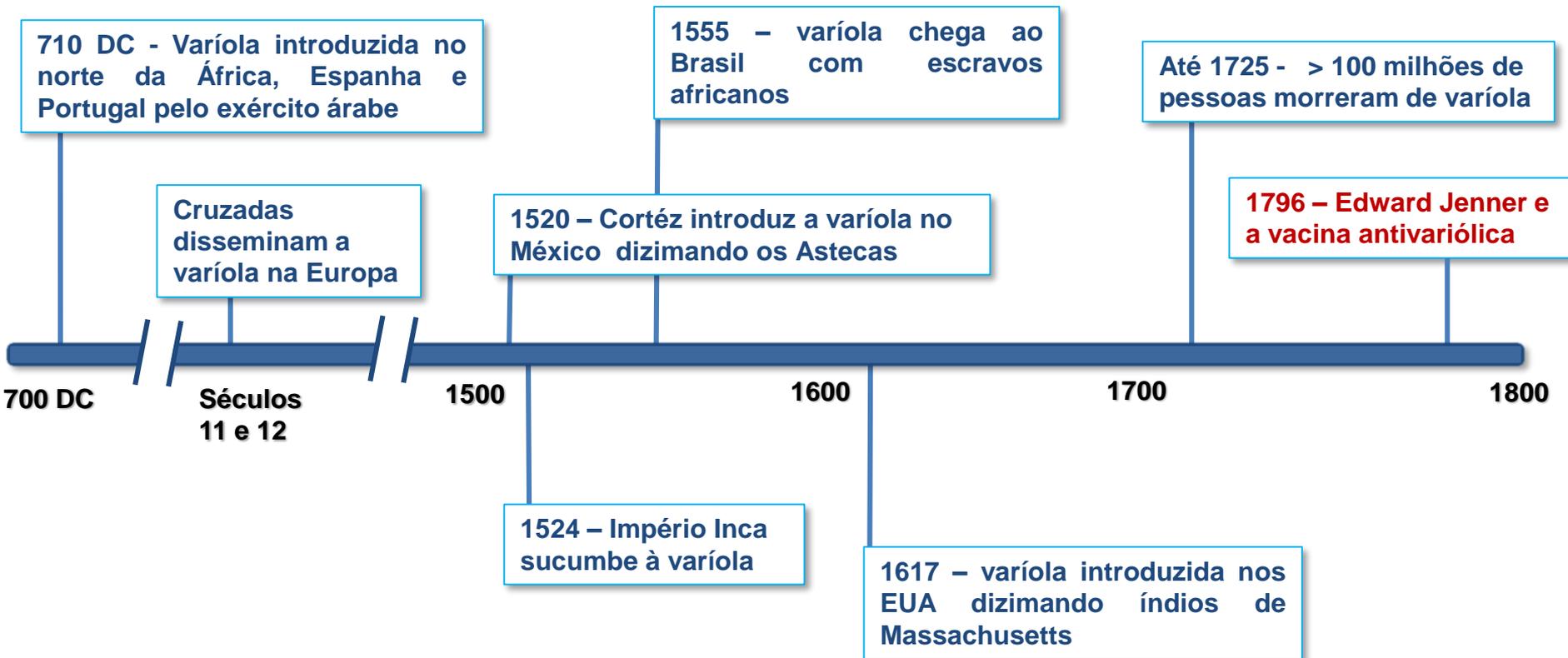
- China, 300 DC



O médico Ko Hung (340 DC) descreve “...sores spread all over the body...the pustules arise all together, and later dry up about the same time...”.



# Varíola - Eventos importantes na História até final do século XVIII

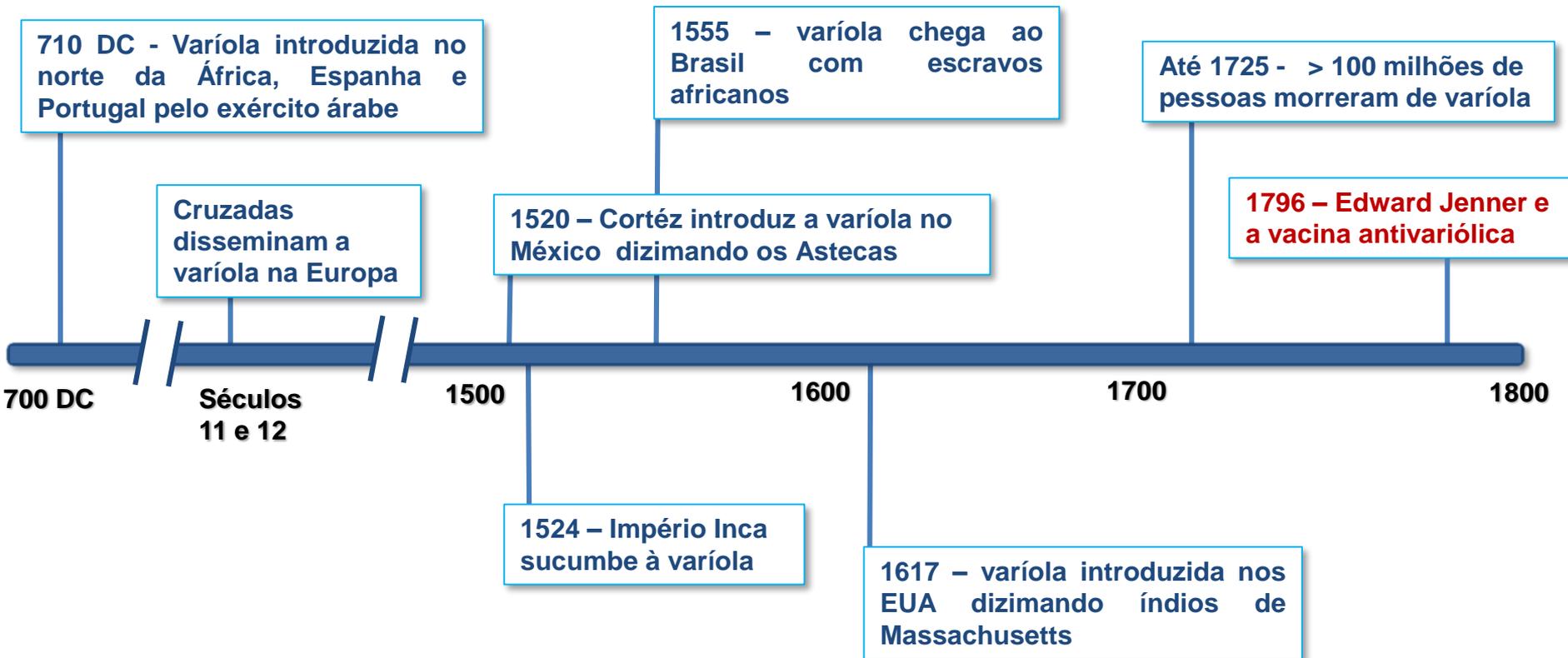


## 1520 – Cortéz introduz a varíola no México dizimando os Astecas

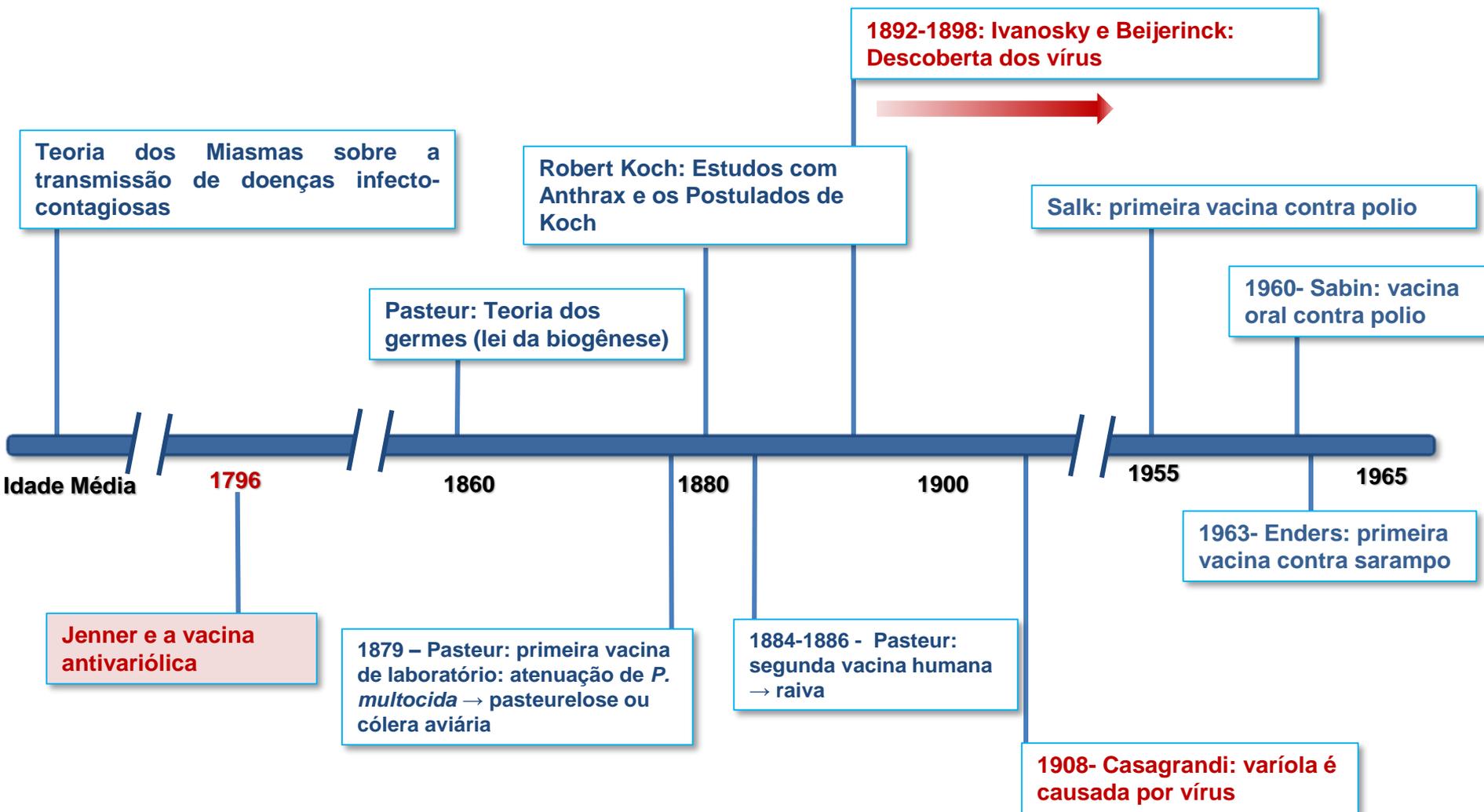


Desenho  
Asteca  
(século XVI)

# Varíola - Eventos importantes na História até final do século XVIII



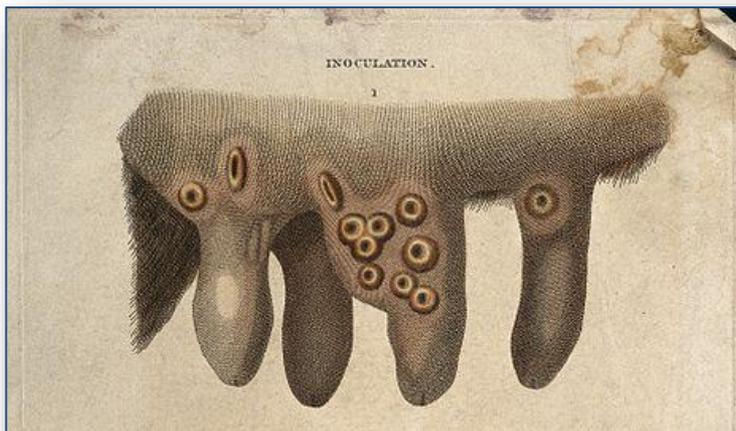
# Teoria dos germes, novas vacinas e a descoberta dos vírus



# Vacinação Antivariólica – 1796



WHO



Cowpox

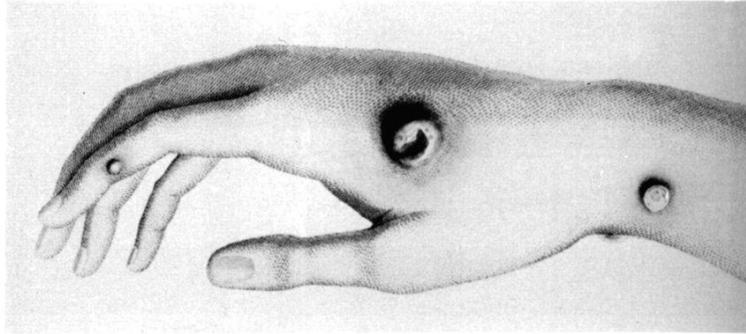
Wellcome Images



variola



# Vacinação Antivariólica - 1796



WELLCOME INSTITUTE LIBRARY, LONDON

**Plate 6.9.** Accidental cowpox lesions on the hand of Sarah Nelmes (case XVI in Jenner's *Inquiry*) from which material was taken for the vaccination of James Phipps in 1796.

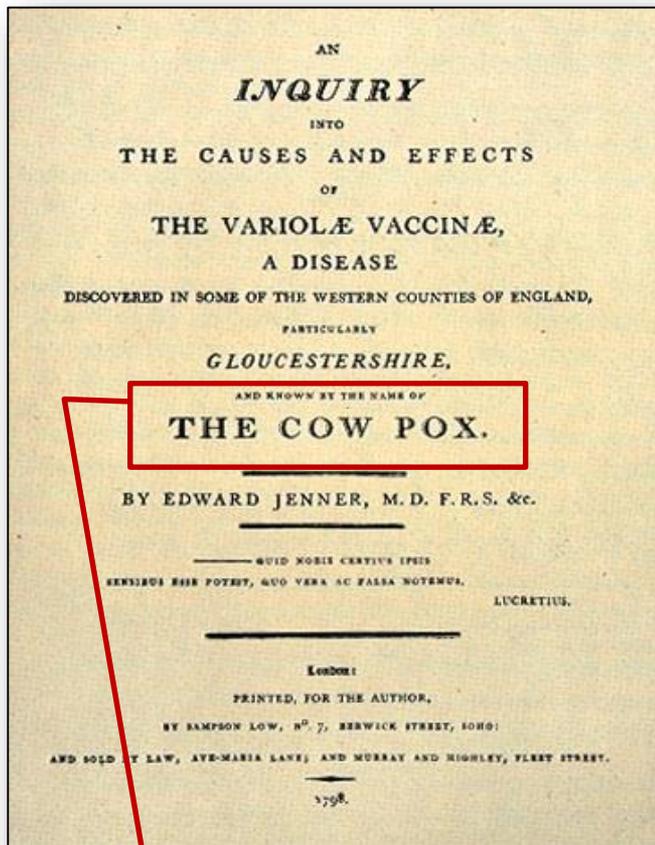
WHO



WHO



# 1798: Primeira vacina na história da humanidade



www.archive.org

Vaccine, vaccinia virus, cowpox virus,  
lymph

Vaccination → latim *vacca* (R. Dunning, 1800)

Gênero *Orthopoxvirus* → antígeno cruzado



**Vacina antivariólica até 1939:**

**vírus cowpox = vírus vaccinia**

**Depois de 1939:**

**vírus cowpox ≠ vírus vaccinia**

- Sequenciamento de genomas

atualmente confirma;

- todas as vacinas antivariólicas da

segunda metade do século XX são de

vírus vaccinia.

616.913—091.8

A STUDY OF THE LESIONS PRODUCED  
EXPERIMENTALLY BY COWPOX VIRUS.

A. W. DOWNIE.

*From the Department of Bacteriology, London Hospital and Medical College.*

(PLATES XXXIX.-XLII.)

THE term “variola vaccinae” was used by Jenner to designate the disease of cattle known as cowpox but it is doubtful whether many of the existing strains of vaccinia have actually been derived from that disease and some are known to have been derived from small-pox by passing infective material through monkeys, rabbits or other animals. Moreover most strains of vaccinia, whatever their origin, have become stabilised in their virulence and immunological characters and although the terms vaccinia and cowpox are frequently used synonymously it seems doubtful whether this practice is justified. In this paper the term “cowpox virus” is used to denote strains which have been isolated from the spontaneous disease in cattle or from lesions in man caused by infection directly from that source.



Jenner usou vírus cowpox e depois de um tempo as vacinas antivariólicas passaram, de algum modo, a ser vírus vaccinia?

ou

Jenner e outros sempre usaram vírus vaccinia e chamavam vírus cowpox porque obtinham de lesões em vacas?

➔ Mistério #1 de Jenner

➔ Mistério #2

- origem desconhecida
- sem hospedeiros naturais??

616.913—091.8

## A STUDY OF THE LESIONS PRODUCED EXPERIMENTALLY BY COWPOX VIRUS.

A. W. DOWNIE.

*From the Department of Bacteriology, London Hospital and Medical College.*

(PLATES XXXIX.-XLII.)

THE term “variolaë vaccinaë” was used by Jenner to designate the disease of cattle known as cowpox but it is doubtful whether many of the existing strains of vaccinia have actually been derived from that disease and some are known to have been derived from small-pox by passing infective material through monkeys, rabbits or other animals. Moreover most strains of vaccinia, whatever their origin, have become stabilised in their virulence and immunological characters and although the terms vaccinia and cowpox are frequently used synonymously it seems doubtful whether this practice is justified. In this paper the term “cowpox virus” is used to denote strains which have been isolated from the spontaneous disease in cattle or from lesions in man caused by infection directly from that source.



# Vacinação antivariólica – século XIX

## Vacina Jenneriana ou humanizada



WHO

## Vacina animal



WHO

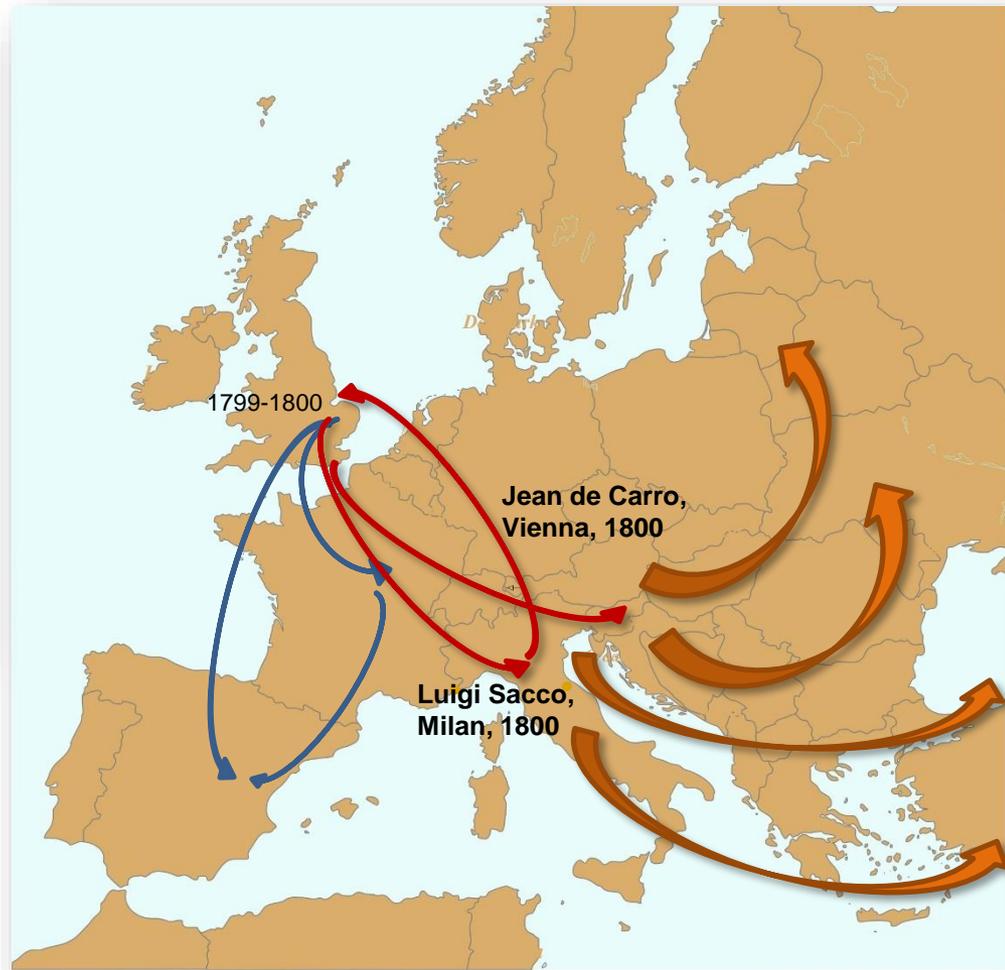


# Vacinação antivariólica – século XIX

## Vacina Jenneriana ou humanizada



WHO



- De Carro J. Histoire de la vaccination en Turquie, en Grèce, et aux indes orientales, 1804.
- Sacco L. Osservazioni pratiche sull' uso del vajuolo vaccino: come preservativo del vajuolo umano, 1801.
- Calcagni F. A letter on the inoculation of the vaccina, practised in Sicily: addressed to her Excellency Madam D Stefania Statella, 1807.



# Vacinação antivariólica – século XIX

## Vacina Jenneriana ou humanizada



WHO



## Real Expedição Filantrópica da Vacina (1803-1813)

Francisco Xavier Balmis  
Patrocínio: Rei Carlos IV



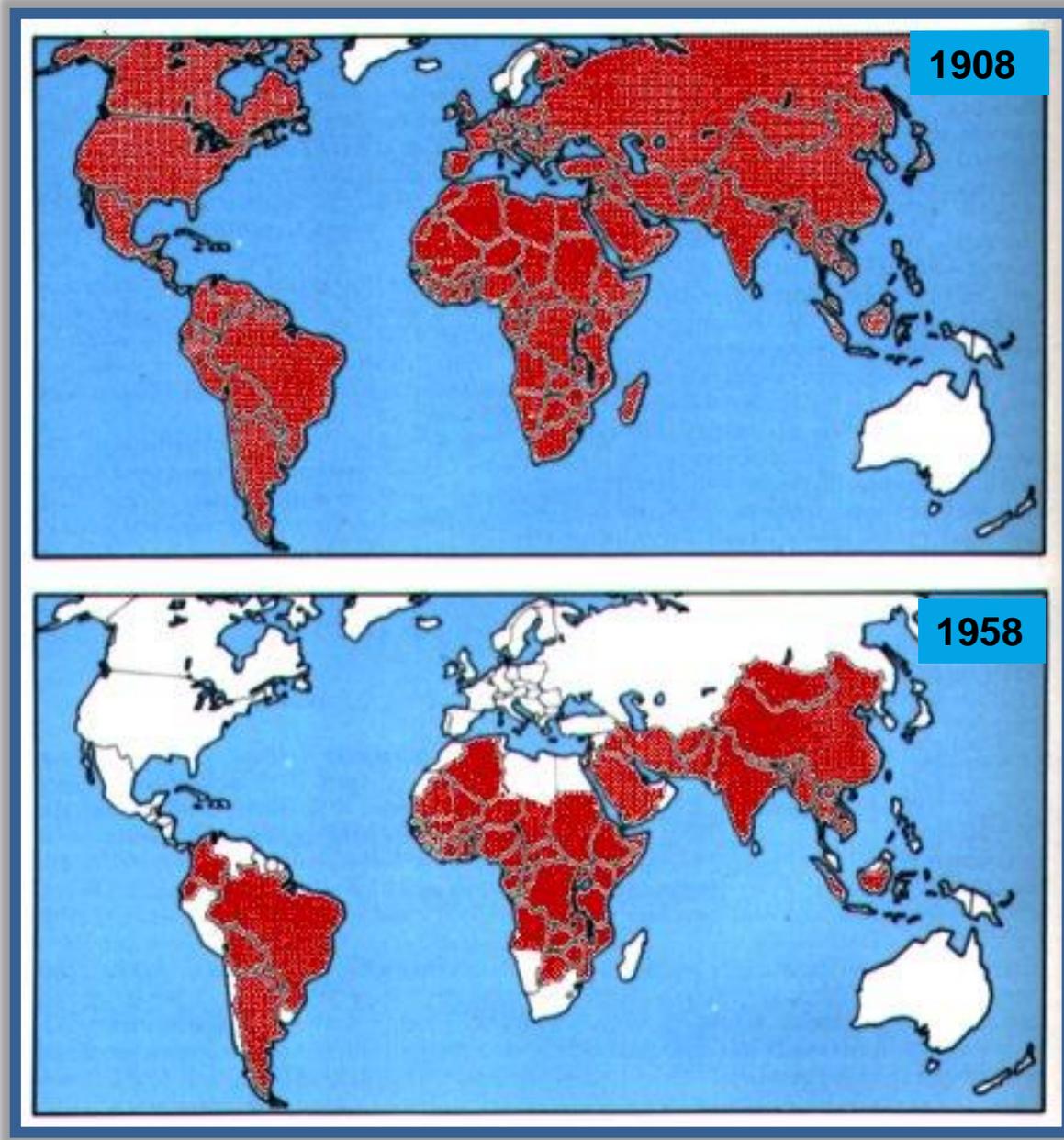
# Vacinação antivariólica – século XIX

## Vacina animal





Smallpox-endemic countries



WHO



# Organização Mundial da Saúde

## Programa de Erradicação da Varíola (1968 – 1978)



WHO



WHO

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE  
MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE  
ET DE LA POPULATION

**PLAN NATIONAL  
D'ÉRADICATION DE LA VARIOLE**

L'Action entreprise contre la variole se poursuit.  
La Côte d'Ivoire déclarée Zone d'endémicité<sup>1</sup> les  
Autorités Sanitaires sont habilitées à prescrire et pratiquer  
selon opportunité vaccinations et revaccinations<sup>2</sup>.

**LA VACCINATION  
EST OBLIGATOIRE<sup>3</sup>**

Les Employeurs des entreprises et établis-  
sements publics et privés sont **person-  
nellement responsables** de l'observation par  
leurs personnels des mesures prescrites<sup>4</sup>.

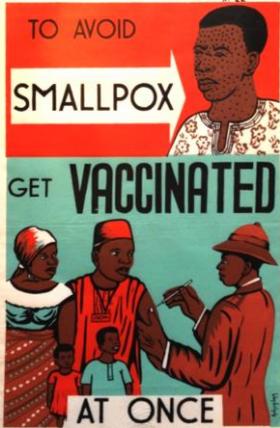
LOI N° 65.200 17, octobre 1963  
1. art. 1 2. art. 11  
3. art. 18 4. art. 17



TO AVOID  
**SMALLPOX**

GET **VACCINATED**

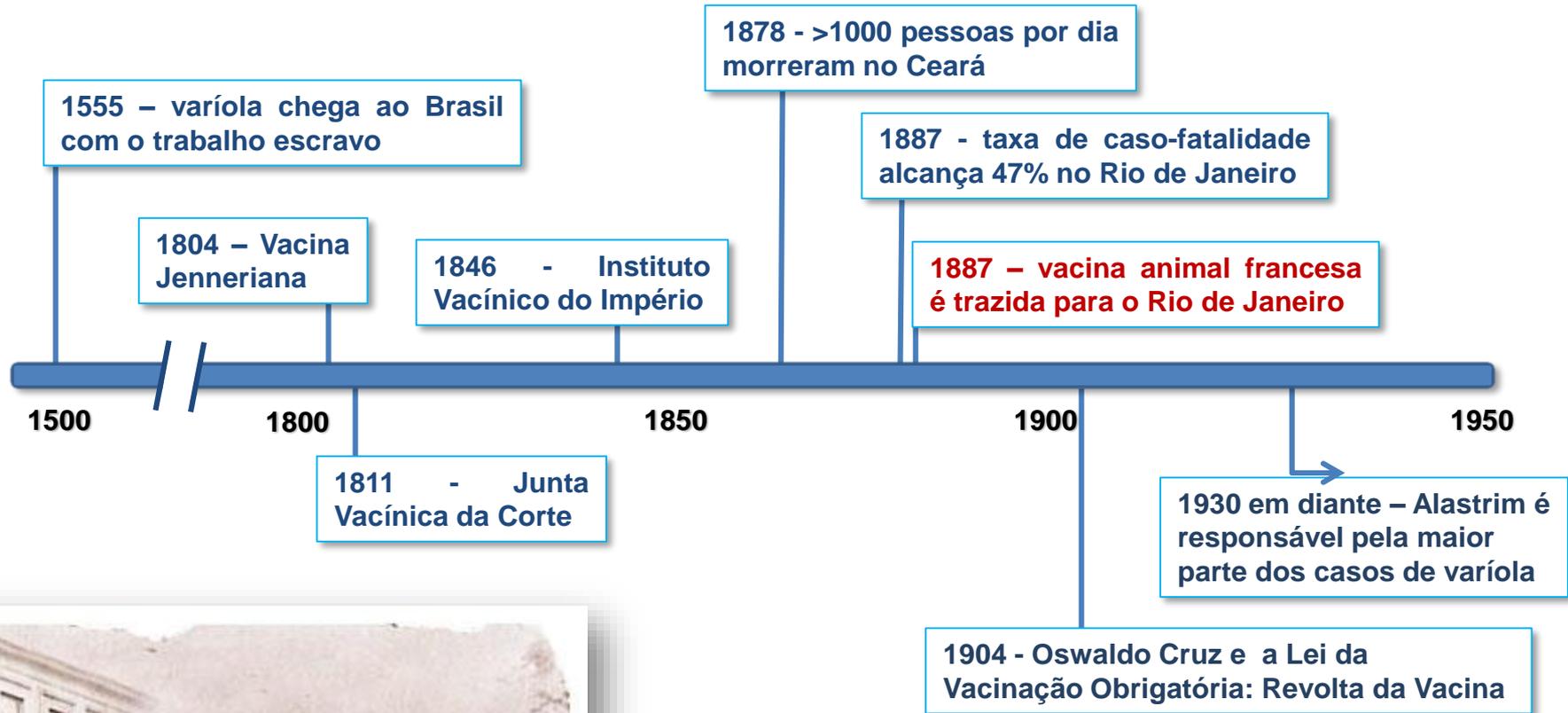
**AT ONCE**



WHO



# Variola no Brasil



Revolta da vacina  
Rio de Janeiro  
1904



# Vacina antivariólica no Brasil no século XX

1887 - Vacina animal (cepa Beaugency)\* trazida do Instituto de Vacina Animal em Paris para o Rio de Janeiro pelo Barão de Pedro Affonso

1894 - produção de vacina animal no Instituto Vacínico Municipal, RJ

1971 - Último caso de varíola no Brasil → Rio de Janeiro, RJ

1850

1900

1950

2000

1920- Instituto Vacínico Municipal é incorporado ao Instituto Oswaldo Cruz, RJ

1975 - fim das campanhas de vacinação contra varíola.



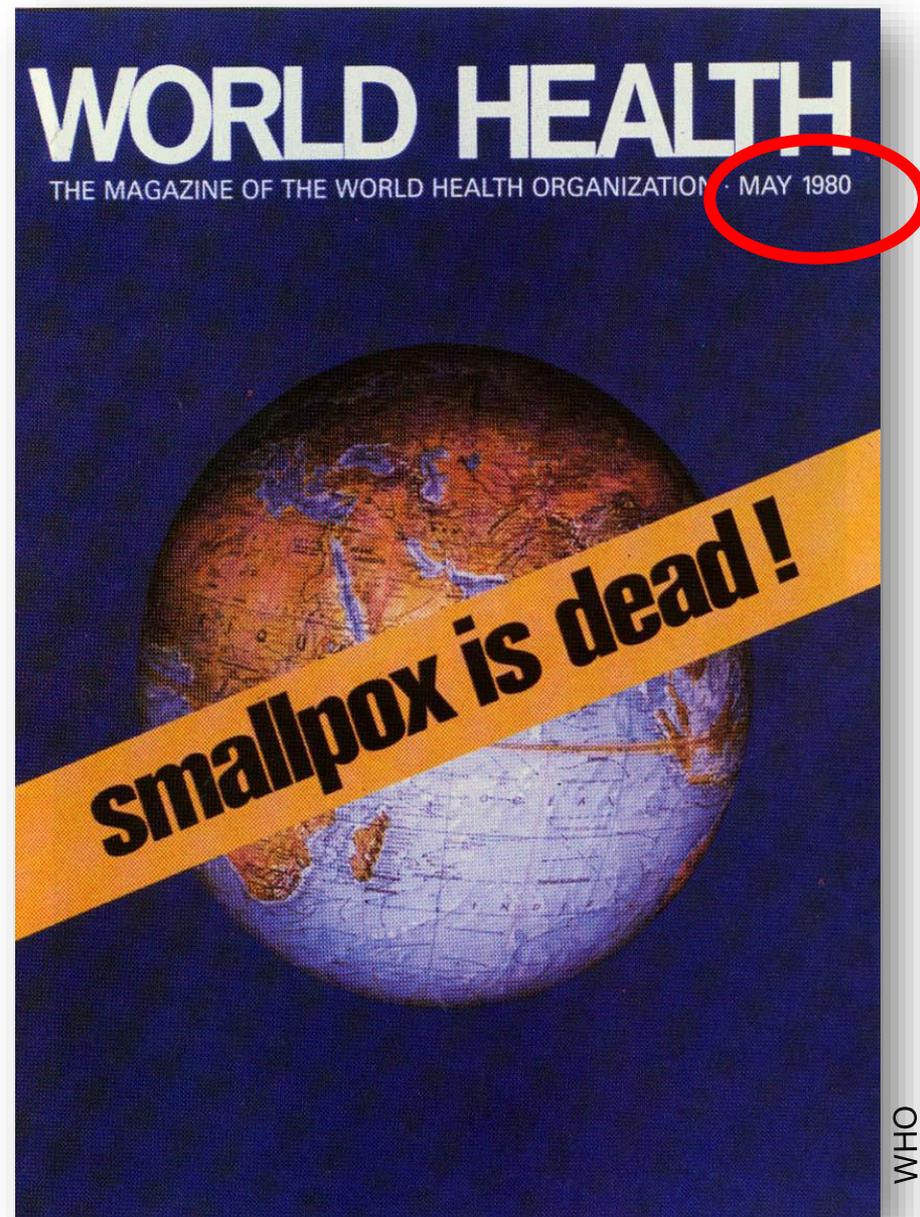
IOC- Agosto, 1954

Fiocruz

\* J. A. Espmark to D. A. Henderson, correspondence on March 31, 1969, file 88-001-10, Sanofi Pasteur Archives [Connaught Campus]



- 1977 – Último caso natural de varíola no mundo (Somália)
- 1978 – Último caso de varíola no mundo (escape de Laboratório na Inglaterra)
- 1980 – OMS declara a erradicação da varíola
- Vacinação suspensa no mundo
- estoques de vírus da varíola guardados em NB4 no CDC, USA e Instituto Vector, Rússia.



# Variola : Cenário pós-erradicação



**símbolo de poder → receio de Bioterrorismo**



# Variola : Cenário pós-erradicação

## Situação dos estoques de vírus da variola



Sede da OMS - Genebra

1980- OMS declara a variola erradicada no mundo

Estoques de vírus da variola são destruídos ou recolhidos para o CDC (EUA) ou Instituto Vector (ex-USSR, atual Rússia)

2001 – Ataque com Anthrax nos EUA

1980

1990

2000

2017

1986 - Assembleia Mundial da Saúde → destruição de todos os estoques de vírus da variola, mas não há acordo quanto à data.

1999 – Comitê Assessor da OMS para pesquisa com vírus da variola (ACVVR \*).

Aprovação e controle das pesquisas

\* WHO Advisory Committee for Variola Virus Research

# Variola : Cenário pós-erradicação

- **Medo e Alerta para Bioterrorismo**

- 22 casos de anthrax após 11 de setembro, 2001
  - 5 mortes
- Vários países e a OMS mantêm estoques da vacina antivariólica.
- O Brasil não tem estoques de vacina antivariólica



# Varíola : Cenário pós-erradicação

- Estudos básicos da biologia dos Orthopoxvírus; estudos da interação virus-célula
- vírus vaccinia – ferramenta como vetor de expressão;
- Surtos de doenças causadas por outros Orthopoxvírus no mundo, por exemplo, vírus Cantagalo no Brasil



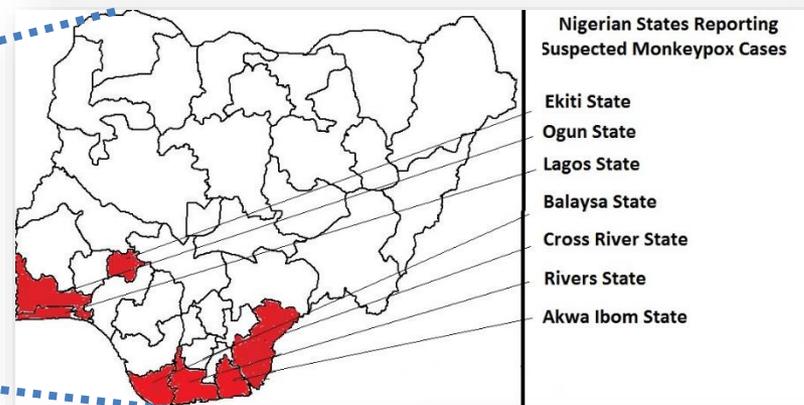
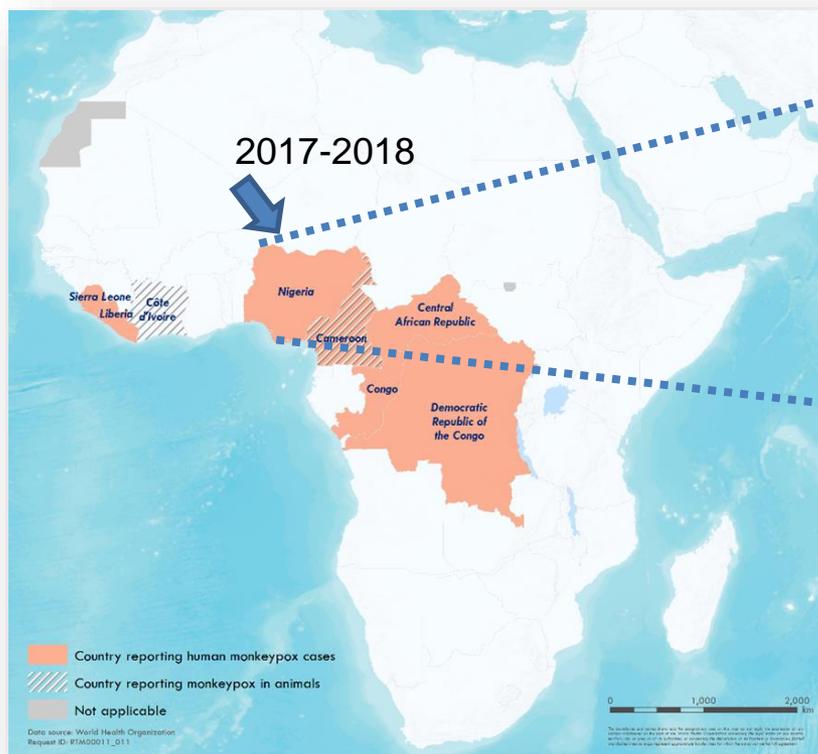
Damaso, 2018 The Lancet Infectious Diseases

## Vírus Cantagalo (CTGV)

(Damaso et al., 2000)



# Vírus monkeypox: África



- 315 casos (até 27 setembro, 2018)
- 85% abaixo de 40 anos
- 7 mortes
- 3 casos importados no Reino Unido (setembro 2018)



dailytimes.ng

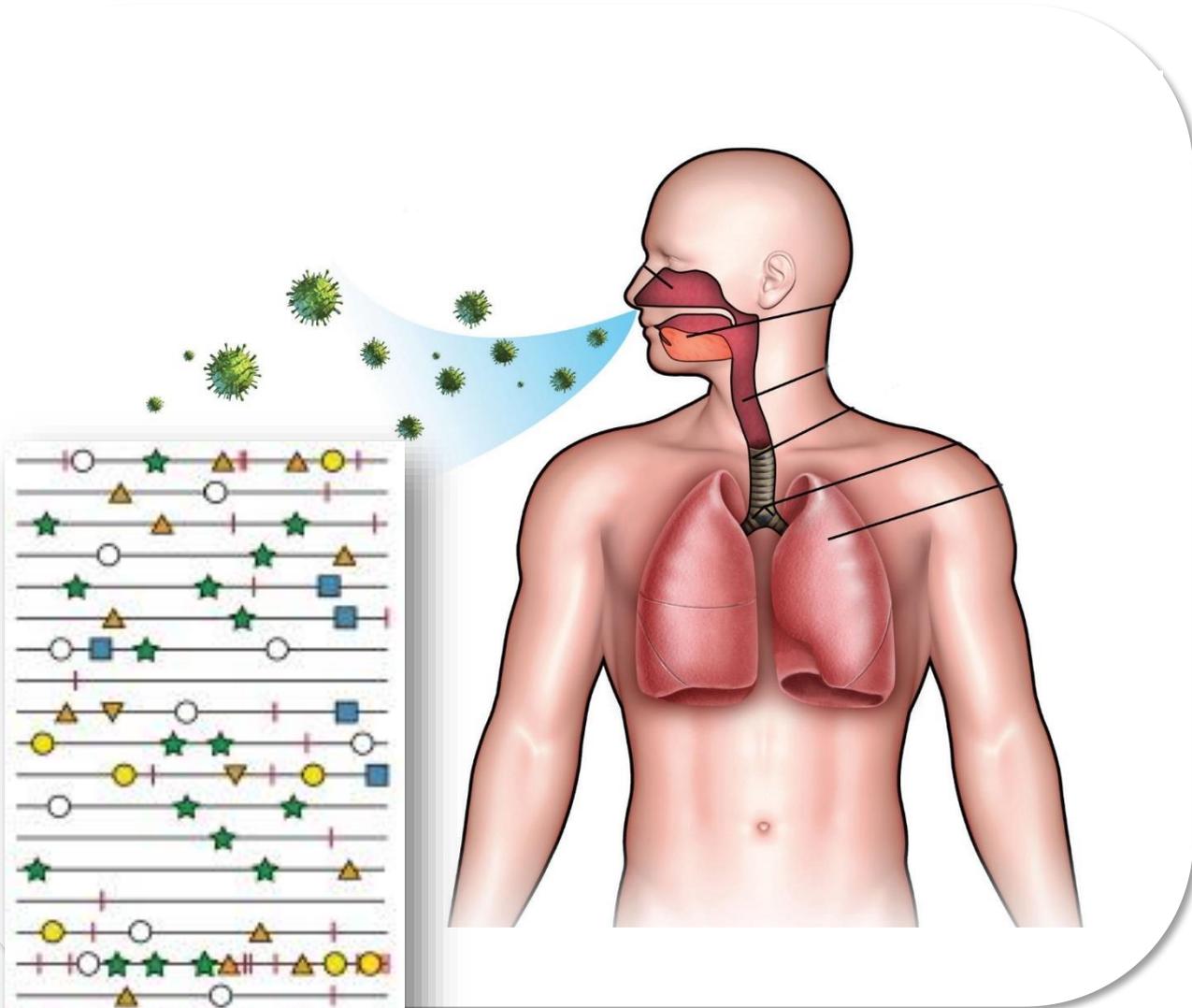


# Vacina antivariólica Brasileira: vírus vaccinia cepa IOC

- Quais são suas características biológicas?
- E a virulência da cepa IOC?
- Indução de resposta imunológica?
- Confere proteção contra desafio letal?
- O que sabemos sobre sua diversidade genética?



# Populações virais nos organismos

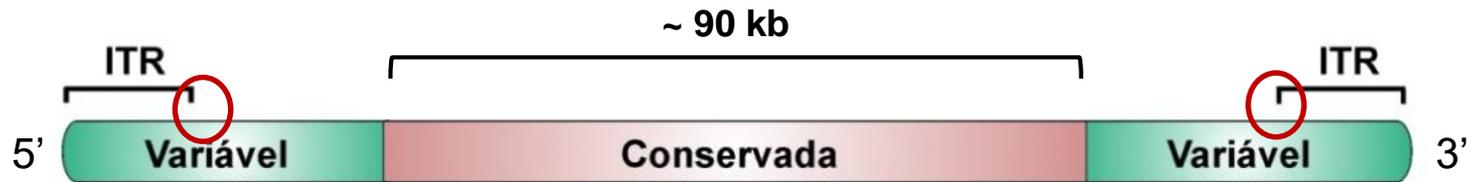


Mix de genomas distintos, mas muito semelhantes

➔ Quasispecies

# Diversidade das cepas vacinais de vírus vaccinia

dsDNA linear de ~190 kb



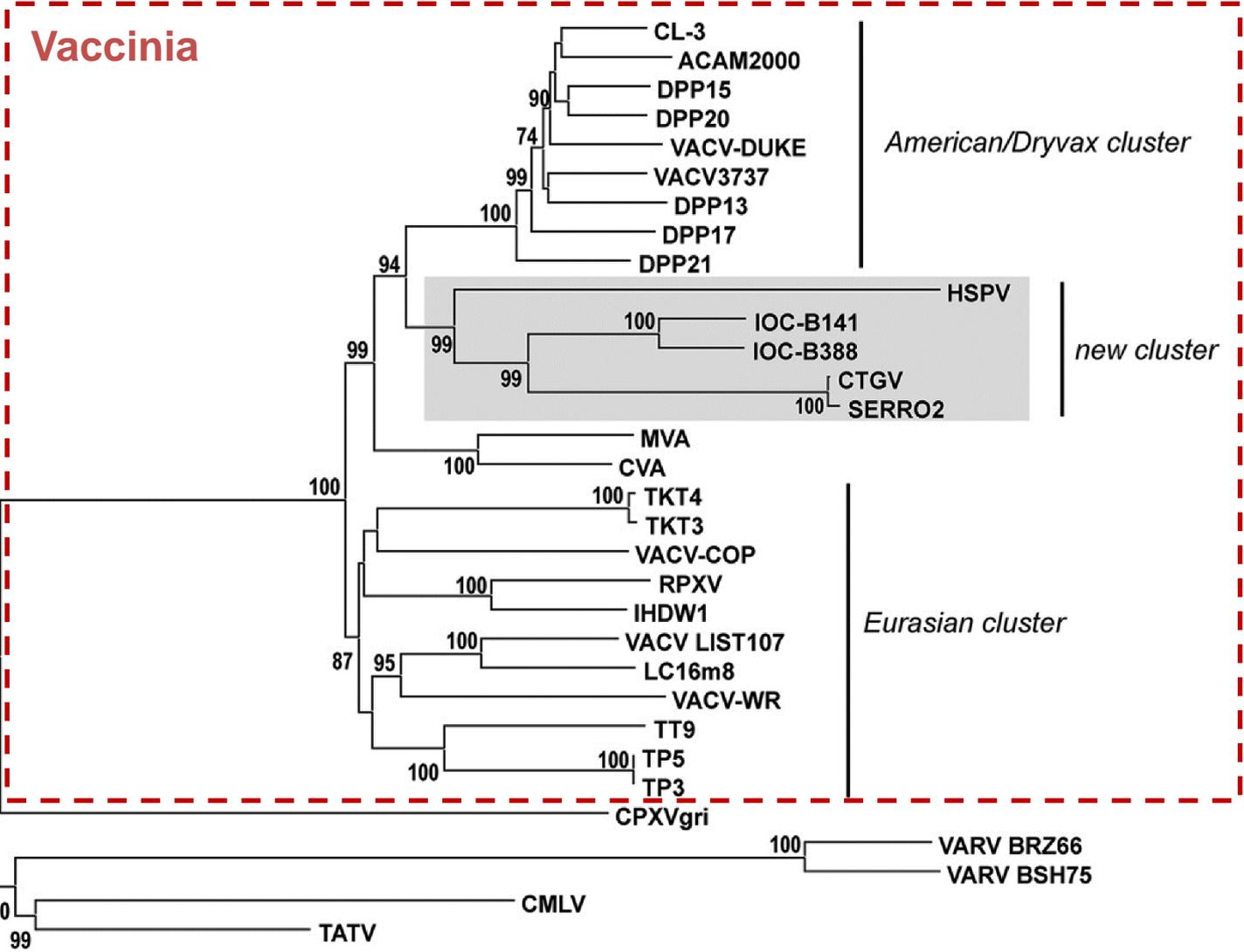
Sítio de quebras, recombinações, deleções, transversões e duplicações entre genomas de vaccinia.

**Muitos eventos de recombinação**

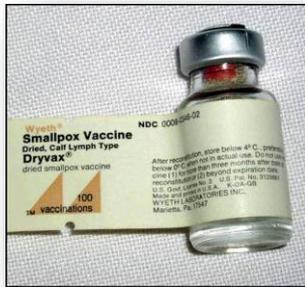
-  Controle de expressão gênica e estrutura virais
-  Evasão/modulação da resposta do hospedeiro



# Phylogenetic analysis

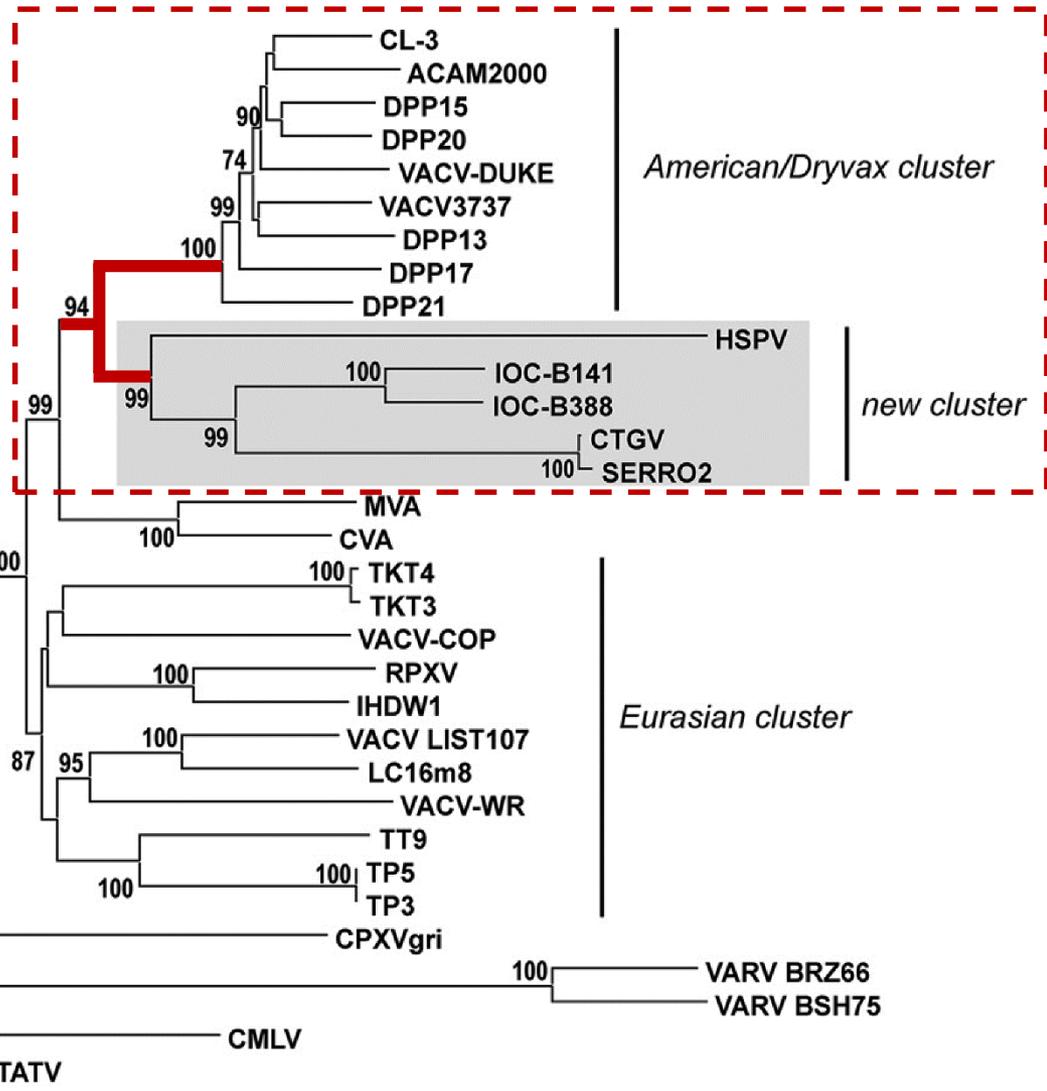


# O novo clado com os vírus brasileiros é um grupo irmão do clado Americano/Dryvax



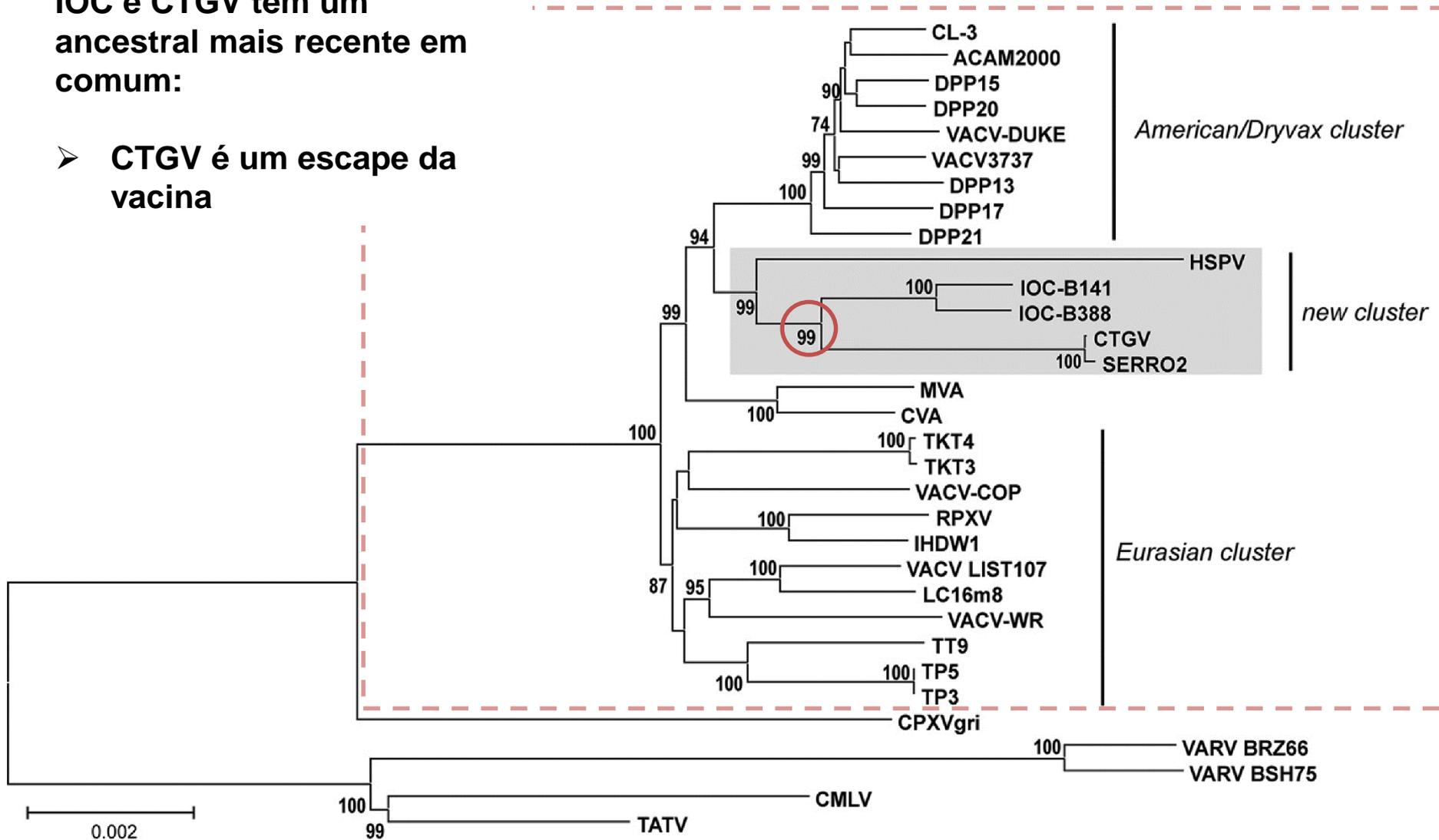
Cepa fabricada pela Wyeth Pharmaceuticals

Origem: NYCBH (?)

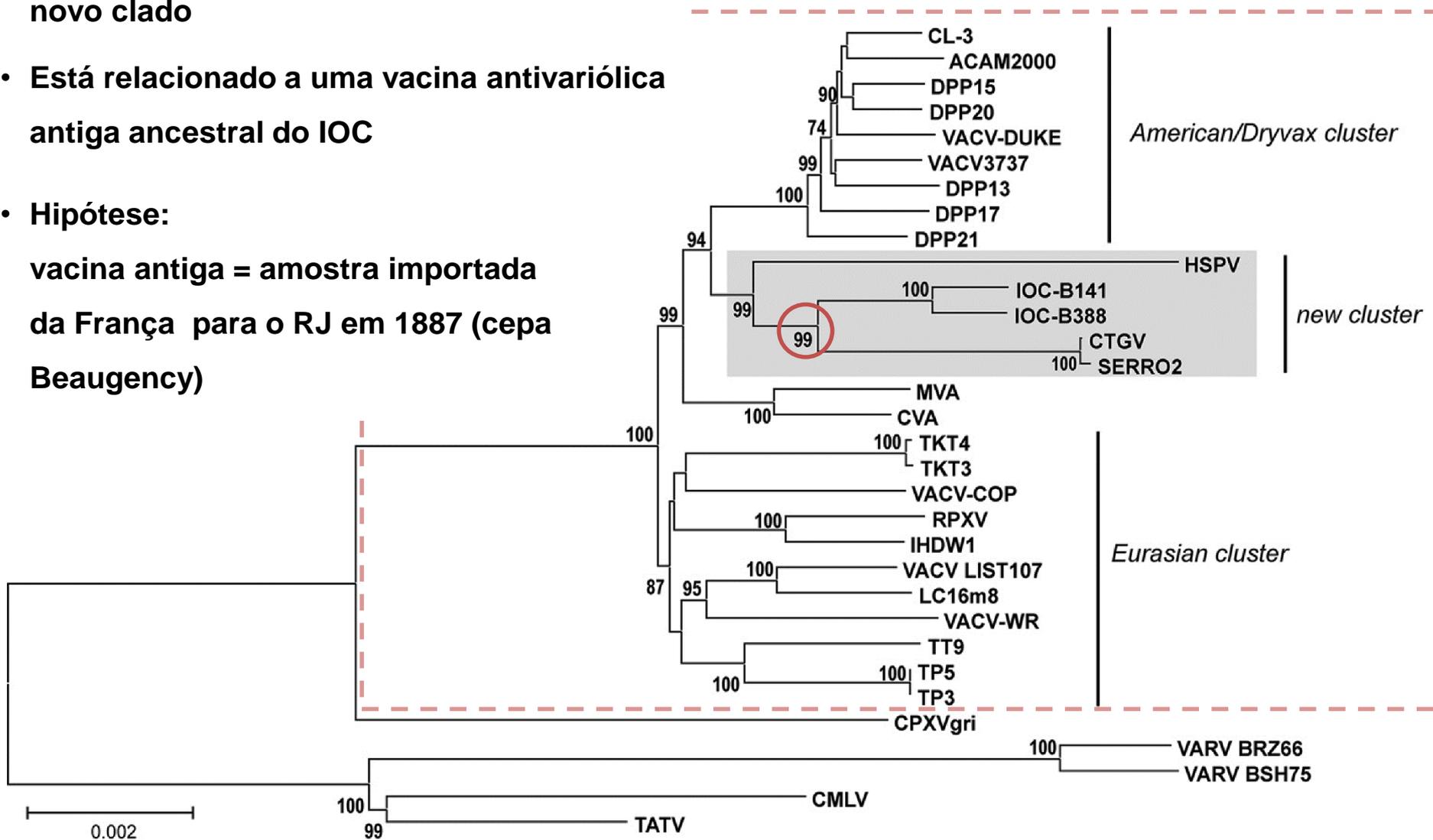


IOC e CTGV têm um ancestral mais recente em comum:

- CTGV é um escape da vacina



- O vírus horsepox (HSPV) pertence ao novo clado
- Está relacionado a uma vacina antivariólica antiga ancestral do IOC
- Hipótese: vacina antiga = amostra importada da França para o RJ em 1887 (cepa Beaugency)



## Com a descoberta desse novo clado ... mais questionamentos....

- ❑ Porque o vírus horsepox está dentro da árvore filogenética de vírus vaccinia?
- ❑ Se IOC veio da cepa francesa Beaugency em 1887 (não há relatos de introdução de outra cepa no Brasil), então a cepa Beaugency era um vírus vaccinia? Ou horsepox?
- ❑ O vírus horsepox foi usado como vacina?

## Como reconcilhamos os achados genéticos/filogenéticos?

- ❑ Porque o vírus horsepox está dentro da árvore filogenética de vírus vaccinia?
- ❑ Se IOC veio da cepa francesa Beaugency em 1887 (não há relatos de introdução de outra cepa no Brasil), então a cepa Beaugency era um vírus vaccinia? Ou horsepox?
- ❑ O vírus horsepox foi usado como vacina?

➤ Investigação histórica...

## Genome of Horsepox Virus

E. R. Tulman,<sup>1,2,3</sup> G. Delhon,<sup>1,4,5</sup> C. L. Afonso,<sup>1,6</sup> Z. Lu,<sup>1</sup> L. Zsak,<sup>1</sup> N. T. Sandybaev,<sup>7</sup>  
U. Z. Kerembekova,<sup>7</sup> V. L. Zaitsev,<sup>7</sup> G. F. Kutish,<sup>1,5,6</sup> and D. L. Rock<sup>1,5\*</sup>

phenotype. They also indicated that while closely related to known VACV-like viruses, HSPV contains additional, potentially ancestral sequences absent in other VACV-like viruses.



History and pathology of vaccination. Crookshank, EM (1889)

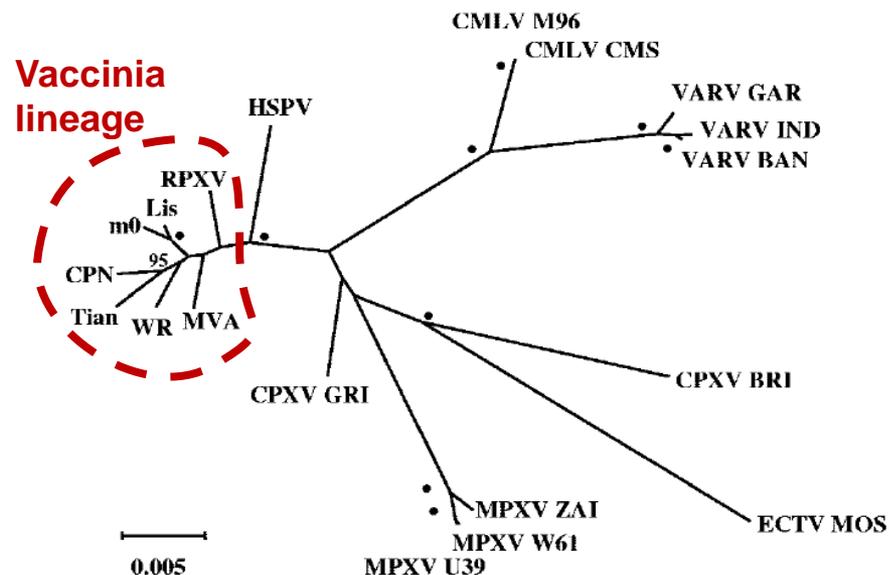
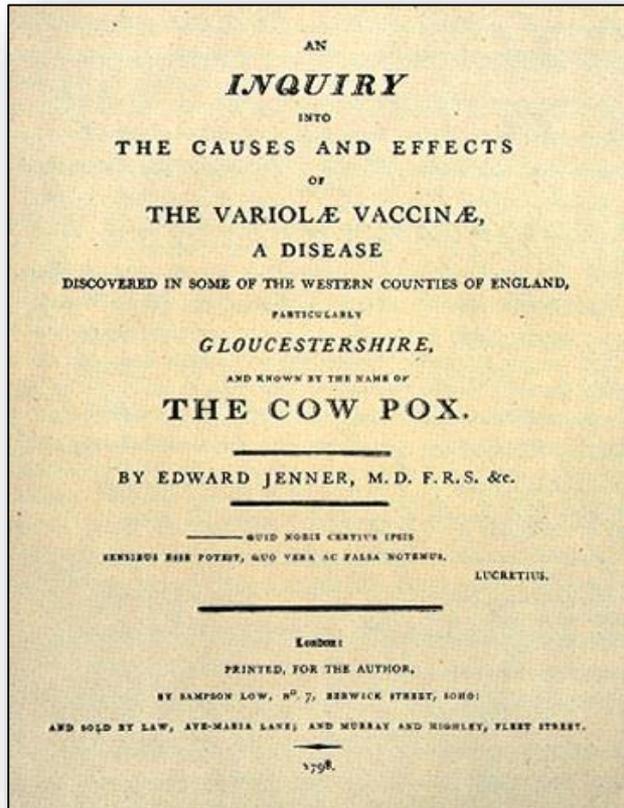


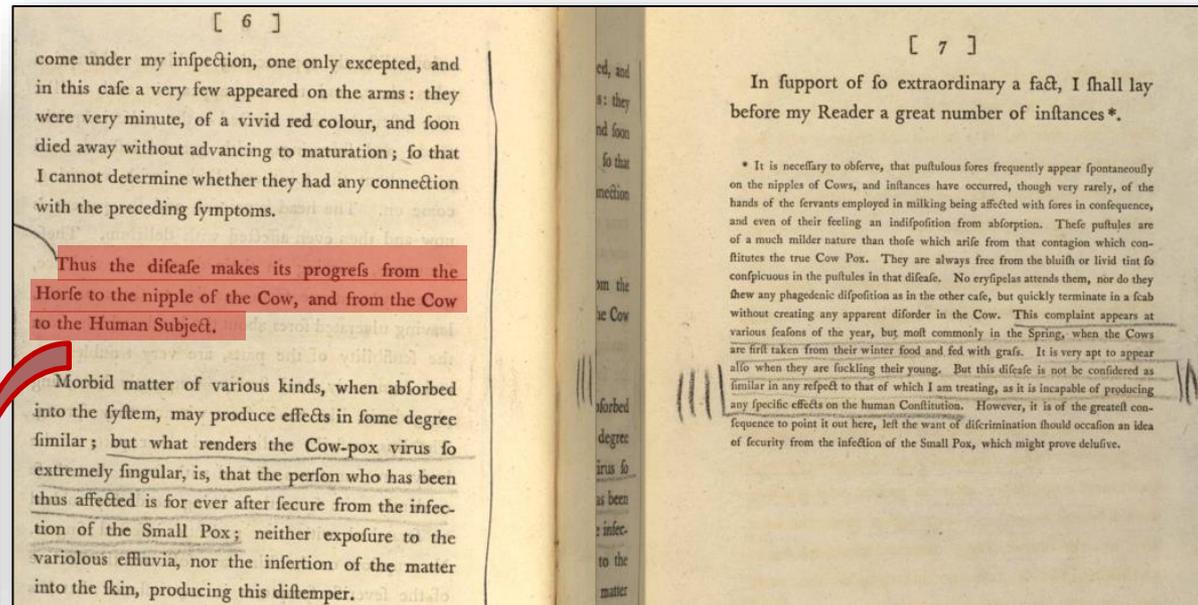
FIG. 2. Phylogenetic analysis of HSPV central genomic regions.



# Vacinação Antivariólica



E. Jenner, 1798



...Então a doença progride a partir do cavalo para os tetos das vacas, e da vaca para o homem.



# Equination

In 1803, Sacco wrote from north Italy that he had successfully used material from the hands of a groom who had 'taken' horse-pox; also Lafont in Saloniki supported Jenner by similar observations (reported by de Carro).

In 1813, Jenner received horse-pox lymph, which he called 'equine,' from a 'veterinary surgeon' named Melon, and used it with success.

In 1817, Jenner reported a series of transferences during 8 months to several persons starting from the horse in this order; horse, man (Allen), two or three cows, man (Cole), man (Powell), man (Rudder), man (Martin), woman; and added that these persons all proved to be protected.

A concise history of small-pox and vaccination in Europe.  
Edwardes, E.J. (1902)

## Vacina antivariólica de Jenner:

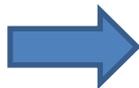
vírus cowpox ?

X

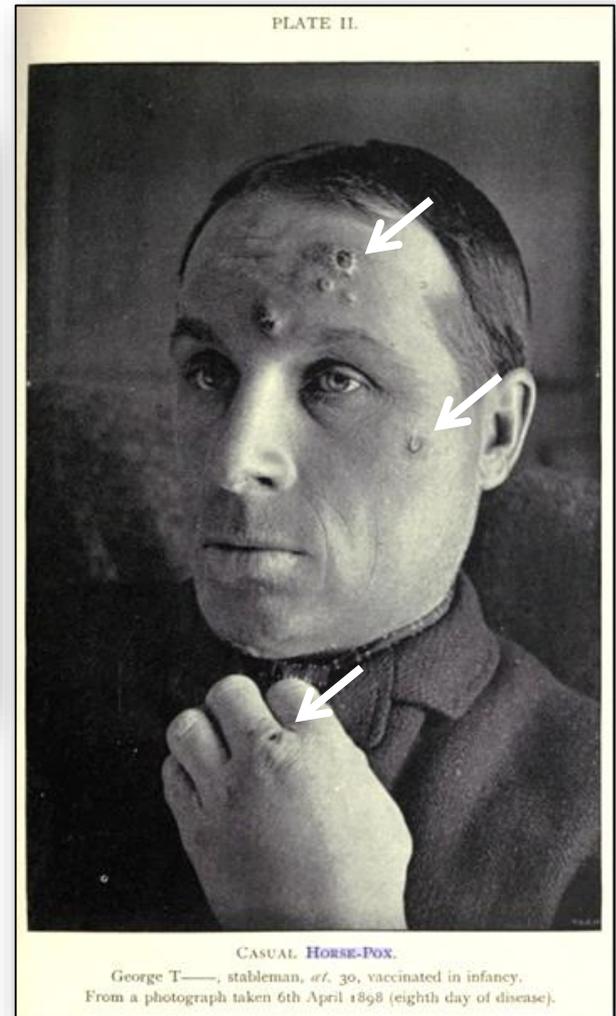
vírus vaccinia ??

X

vírus horsepox ??



Mistério # 3 de Jenner



Vaccination; its natural history and pathology.  
Copeman, SM (1899)

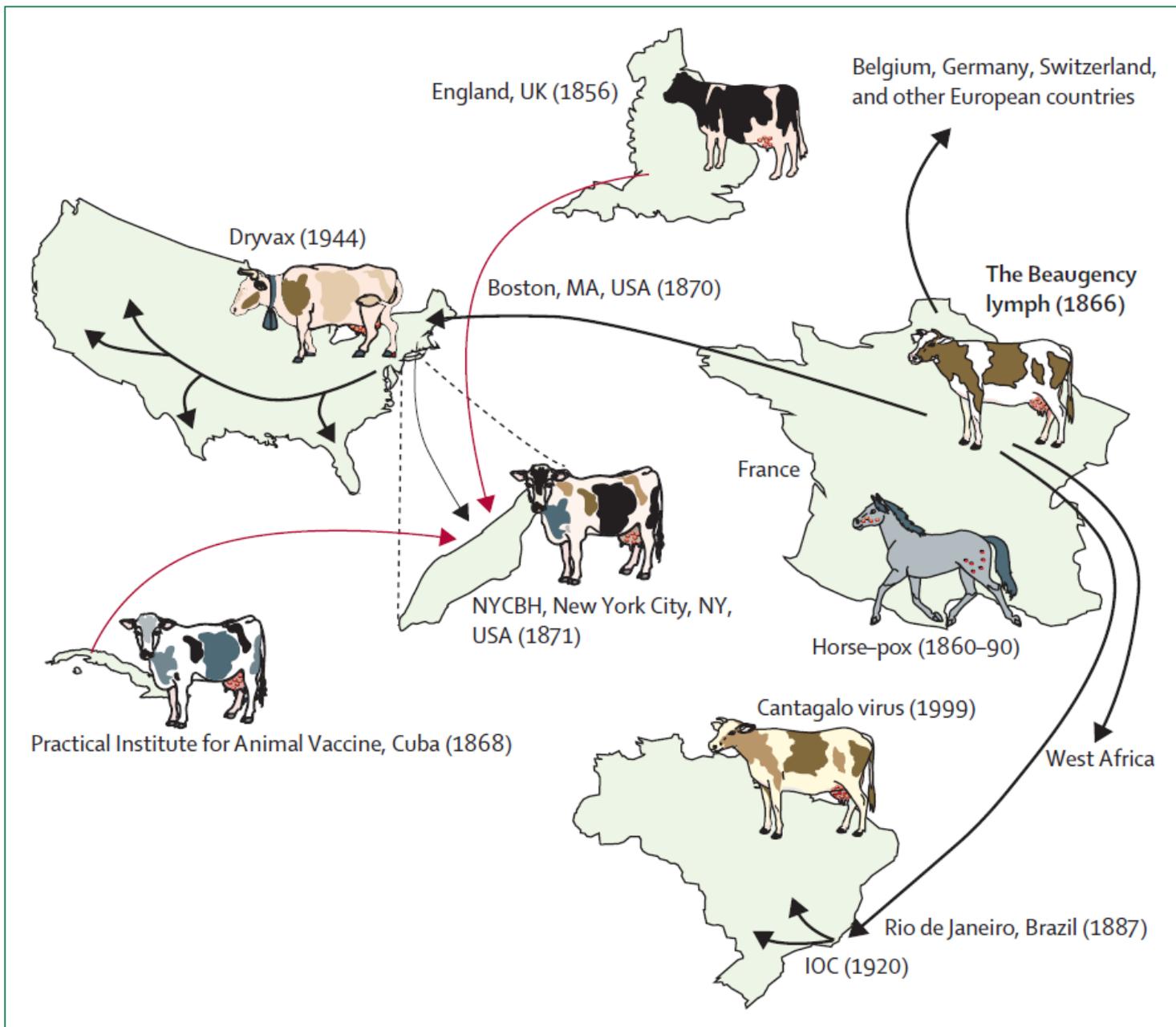
## Como reconcilhamos os achados genéticos/filogenéticos?

- ❑ Porque o vírus horsepox está dentro da árvore filogenética de vírus vaccinia?
- ❑ Se IOC veio da cepa francesa Beaugency em 1887 (não há relatos de introdução de outra cepa no Brasil), então a cepa Beaugency era um vírus vaccinia? Ou horsepox?
- ❑ O vírus horsepox foi usado como vacina?

➤ Investigação histórica...

➤ Porque horsepox está dentro do clado com IOC?

➤ Quem é essa cepa Beaugency ???

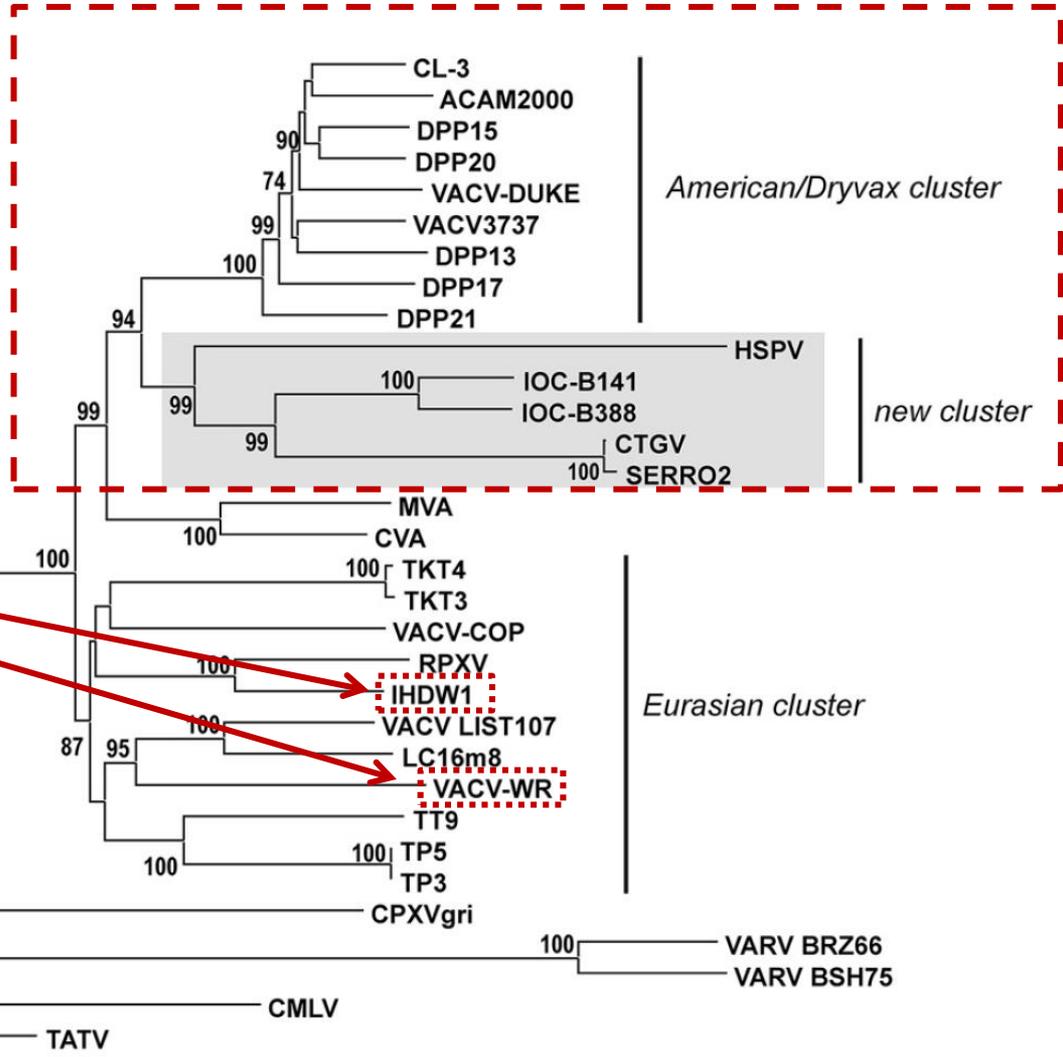


Damaso, CR (2018).  
 Revisiting Jenner's mysteries, the role of the Beaugency lymph in the  
 evolutionary path of ancient smallpox vaccines.  
 The Lancet Infectious Diseases - Published online August 18, 2017

# Lições:

Origem: Beaugency

Origem: NYCBH  
(Inglaterra e/ou  
Cuba)



## Lições:

- Século 19: muita experimentação e misturas para produzir vacinas antivariólicas:

 grande diversidade de genomas de vírus vaccinia

 forte impacto na evolução viral.

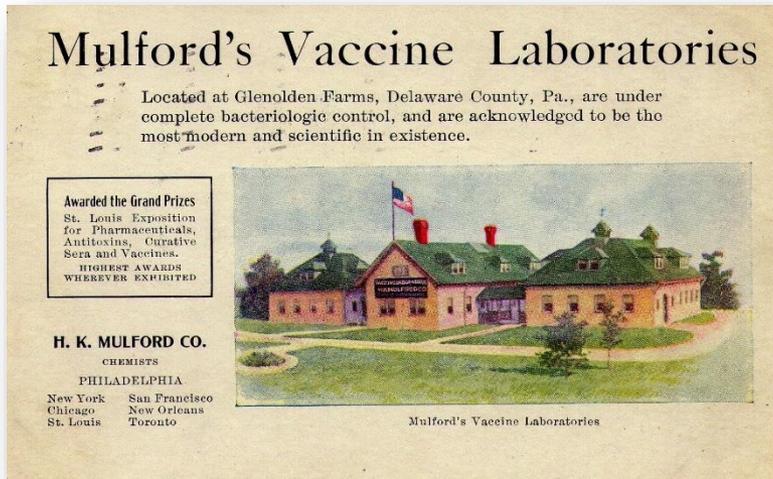
- A cepa Beaugency provavelmente era vírus vaccinia ou mesmo vírus horsepox, mas certamente não era um caso natural de vírus cowpox.

**➤ O vírus horsepox foi usado como vacina?**

# The Mulford vaccine strain, 1902

H. K. Mulford Company, Glenolden, Pennsylvania

Purchased by Sharp & Dohme Corp in 1929.



Vial da vacina Mulford, 1902

Schrick et al., 2018

In collaboration with:

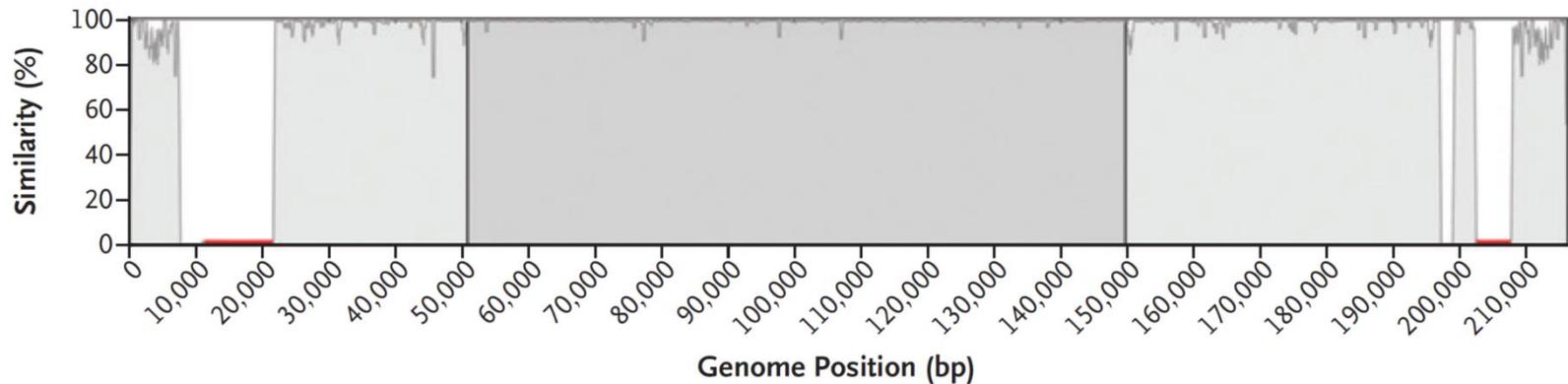
Andreas Nitsche – Robert Koch Institute, Berlin

José Esparza – Institute of Human Virology,  
University of Maryland School of Medicine,  
Baltimore

## The Mulford vaccine strain, 1902:

**Primeira evidência científica de que o vírus horsepox foi utilizado como vacina antivariólica**

Mulford strain: core region has 99.7% identity to Horsepox virus



**An Early American Smallpox Vaccine Based on Horsepox**

Schrick et al N ENGL J MED 377;15 NEJM.ORG OCTOBER 12, 2017

## Conclusões:

- Século 19: muita experimentação e misturas para produzir vacinas antivariólicas:

➔ grande diversidade de genomas de vírus vaccinia

➔ forte impacto na evolução viral.

- A cepa Beaugency provavelmente era vírus vaccinia ou mesmo vírus horsepox, mas certamente não era um caso natural de vírus cowpox.

- Jenner e outros dos séculos 18 e 19 usaram :

vírus cowpox ?



vírus vaccinia? vírus horsepox?



## Genomic Analysis, Phenotype, and Virulence of the Historical Brazilian Smallpox Vaccine Strain IOC: Implications for the Origins and Evolutionary Relationships of Vaccinia Virus

Maria Luiza G. Medaglia,<sup>a</sup> Nissin Moussatché,<sup>b</sup> Andreas Nitsche,<sup>c</sup> Piotr Wojtek Dabrowski,<sup>c</sup> Yu Li,<sup>d</sup> Inger K. Damon,<sup>d</sup> Carolina G. O. Lucas,<sup>e</sup> Luciana B. Arruda,<sup>e</sup> Clarissa R. Damaso<sup>a</sup>

# THE LANCET Infectious Diseases

Published online August 18, 2017 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30445-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30445-0)

## Revisiting Jenner's mysteries, the role of the Beaugency lymph in the evolutionary path of ancient smallpox vaccines



Clarissa R Damaso

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

### CORRESPONDENCE



### An Early American Smallpox Vaccine Based on Horsepox

N ENGL J MED 377;15 NEJM.ORG OCTOBER 12, 2017

Livia Schrick, Ph.D.  
Simon H. Tausch, M.Sc.  
P. Wojciech Dabrowski, Ph.D.  
Robert Koch Institute  
Berlin, Germany  
Clarissa R. Damaso, Ph.D.  
Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Rio de Janeiro, Brazil  
José Esparza, M.D., Ph.D.  
University of Maryland School of Medicine  
Baltimore, MD  
Andreas Nitsche, Ph.D.  
Robert Koch Institute  
Berlin, Germany  
nitschea@rki.de

## Beyond the myths: Novel findings for old paradigms in the history of the smallpox vaccine

José Esparza, Andreas Nitsche, Clarissa R. Damaso 

Published: July 26, 2018 • <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007082>

