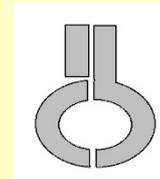


# Vacinas Virais

**Microbiologia Básica para Farmácia – BMM160**

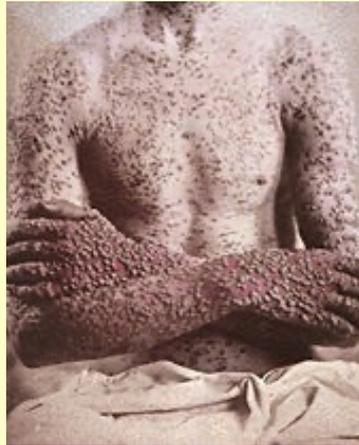
**Prof. Armando Ventura**

**As figuras desta apresentação que têm direitos autorais, são aqui utilizadas para ensino sem fins lucrativos.**



## **Jenner e a variolação**

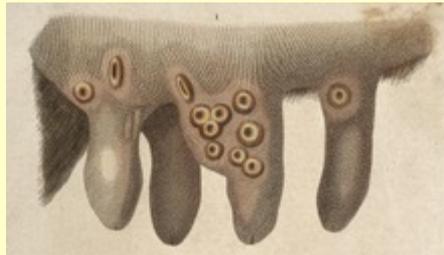
**A varíola é uma doença de evolução rápida, após duas semanas de incubação começam os sintomas, culminando com as pústulas na pele, e em 30% dos casos (varíola major) evolução para hemorragia grave e morte.**



**A variolação (inativação do patógeno das pústulas por secagem ao sol e inoculação na pele) foi desenvolvida na China**

**Levada para a Europa**

**Edward Jenner médico inglês, variolado quando criança, teve sua atenção voltada para a proteção supostamente presente em ordenhadoras portadoras de cowpox (“variola das vacas”).**





**Em 1796 fez um experimento, utilizando como cobaia o menino James Phipps, que após variação com as lesões de cowpox retiradas das mão de Sarah Nelmes resistiu ao desafio com a varíola humana (smallpox).**

**Vacina é um termo derivado do latim, vacca (vaca) e vaccina (vindo da vaca), consolidado por Pasteur em referência ao trabalho de Jenner.**

**Isso ocorreu após o sucesso no desenvolvimento de uma vacina de caráter experimental (a primeira produzida em laboratório) contra a bactéria *Pasteurella multocida*, que causa a letal cólera das galinhas (1879). Essa vacina baseou-se na atenuação da bactéria.**



**Louis Pasteur e Émile Roux posteriormente desenvolveram a vacina contra a Raiva (100% letal), a segunda vacina antiviral da história, produzida em tecido nervoso de coelhos e inativado por secagem.**

**Foi testada pela primeira vez em humanos no garoto Joseph Meister mordido por um cão raivoso, em 1885.**

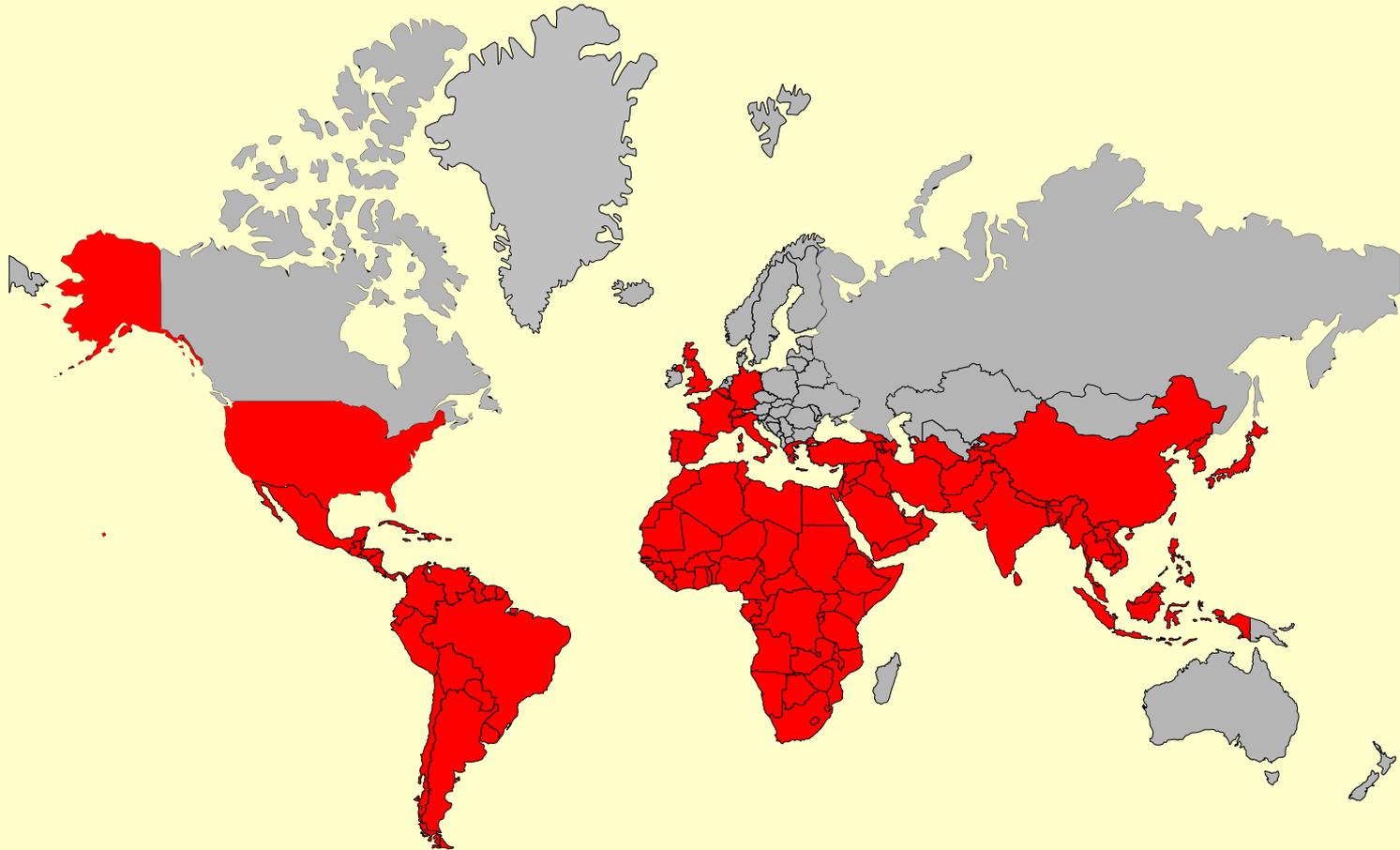
## **Erradicação da varíola**

**Em 1805, foi iniciado cultivo do vírus em larga escala no dorso de bezerros. Ao serem descobertos os vírus, o nome científico do “cowpox” ficou sendo *variolae vaccinae*.**

**Em algum momento em meados desse século o vírus vaccínia substituiu o cowpox nesse processo de cultivo, e teve seu uso adotado globalmente.**

**A vacinação massiva passou a ser aplicada com a perspectiva de obter uma “imunidade de rebanho” a população mundial.**

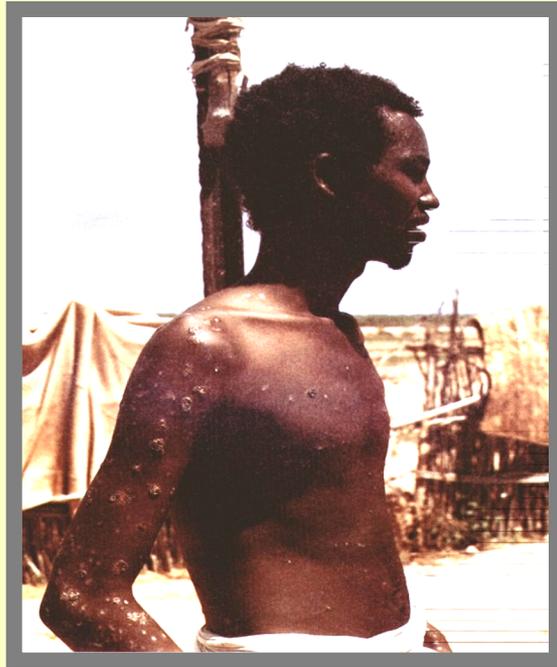
## Áreas endêmicas de varíola em 1945



## A partir de 1966 a OMS lançou a nível mundial um programa de contenção para erradicar a varíola.

- Ser humano é o único hospedeiro do vírus.
- Diagnóstico eficiente.
- Uma intervenção efetiva para interromper a transmissão era possível.
- Formulação vacinal liofilizada.
- Sistema de inoculação eficiente.
- A identificação dos casos, e a contenção da transmissão vacinando os contatos primários e seus contatos mostrou-se uma **estratégia eficiente**.





Ali Maow Maalin  
Último caso por transmissão natural em 1977 na Somália.

**Será?**  
**E os estoques nos freezers dos EUA e Rússia?**

**Potencial utilização como arma biológica...**

**Porque uma vacina é eficiente na prevenção de doenças causadas por microrganismos?**

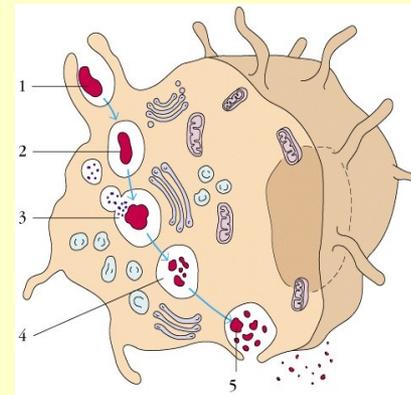
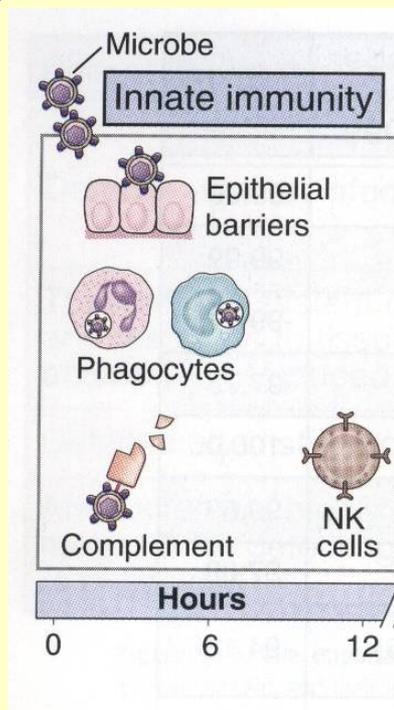
**As respostas vieram com o desenvolvimento da Imunologia.**

## **Resposta imune**

- **Células, tecidos e moléculas que mediam resistência = sistema imune (SI).**
- **Reação coordenada destas = resposta imune.**
- **SI se baseia no reconhecimento do próprio x não próprio (*self x non-self*).**
- **O SI é essencial à vida, a falta ou deficiência dele levam à doença ou morte.**

# Imunidade Inata

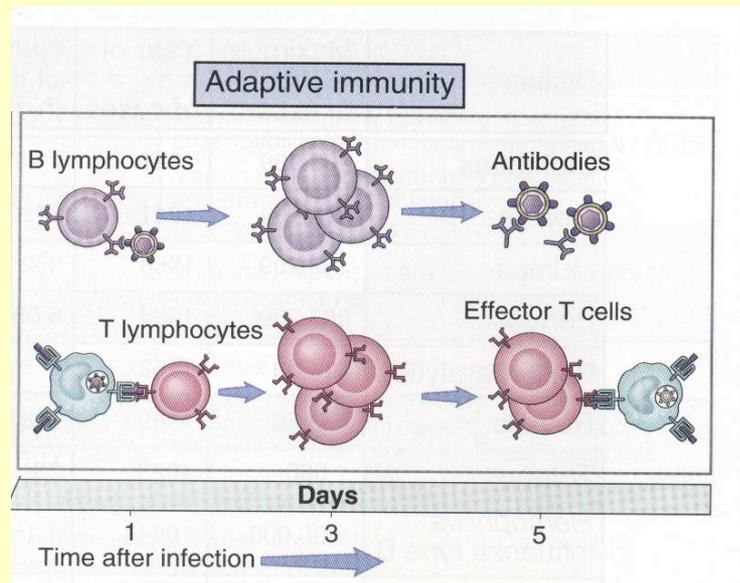
- **Barreiras epiteliais**
- **O muco, o suco gástrico, a lisozima presente na saliva e lágrimas, e a microbiota normal**
- **Se os microrganismos quebram essas barreiras e entram nos tecidos ou circulação, temos ainda:**
  - **Natural Killer (NK)/Macrófagos (fagocitose)**
  - **Proteínas do plasma e sistema de complemento (ataque ao envoltório).**



# Imunidade Adaptativa

O sistema imune adaptativo consiste de leucócitos e seus produtos, anticorpos e citocinas.

- Reconhece substâncias diferentes, microbianas ou não, estas substâncias são chamadas antígenos.
- Os antígenos são ativos se atravessam as barreiras inatas e são reconhecidos.
- Esse reconhecimento ativa mecanismos que são especializados para combater tipos diferentes de infecções.



# Imunidade Humoral

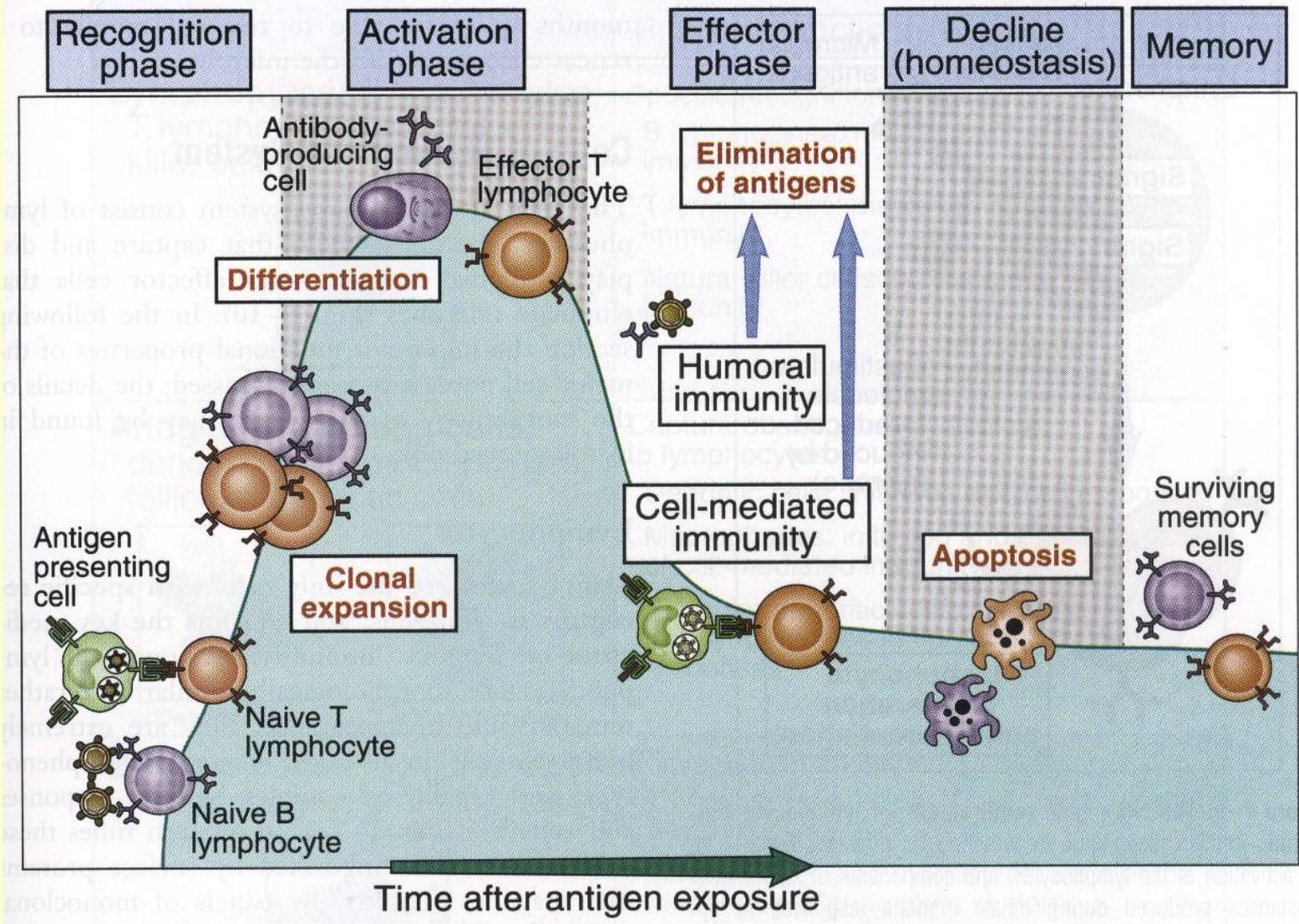
- **Os anticorpos produzidos por linfócitos B**
    - São secretados na circulação e mucosas
    - Neutralizam e eliminam microrganismos e toxinas microbianas no sangue e no lúmen de órgãos mucosos, assim impedem que micróbios presentes na mucosa ganhem acesso para colonizar células e tecidos.
- » Previnem infecções de se estabelecer.

## **Imunidade Celular**

- **Anticorpos não têm acesso a microrganismos que vivem e se dividem dentro de células infectadas.**
- **A defesa contra tais microrganismos é chamada imunidade celular.**
- **Mediada por linfócitos T.**
  - **Ativam fagócitos para destruir micróbios.**
  - **Os citotóxicos matam células que estão abrigando microrganismos no citoplasma.**

## Propriedades da Resposta Imune Adaptativa

- **Especificidade (anticorpos e receptores de células T efectoras específicos são gerados para cada epítopo dentro de um antígeno)**
- **Discriminação entre o próprio e o não-próprio**
- **Memória**

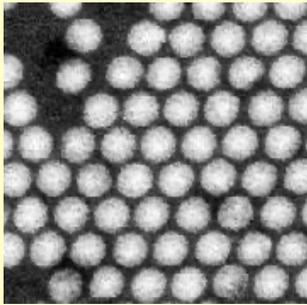


# Memória Imunológica

**É a capacidade de recordar um contato prévio com uma molécula e responder a este novo contato de forma mais rápida e ampla.**

- **Aperfeiçoa a habilidade do SI para combater infecções persistentes e reincidentes**
  - **Ativa células de memória previamente geradas.**
  - **Cada encontro gera + células de memória.**
- **Essas são as razões porque vacinas e/ou infecções conferem proteção longa e duradoura.**

O vírus da poliomielite, causador da paralisia infantil, era um gravíssimo problema até o final da década de 1950



# **Desenvolvimento das vacinas contra a Poliomielite**

## **Família Picornaviridae**

**Enterovírus**

**Poliomielite**

**Coxsackie**

**Echovírus**

**Causam principalmente  
meningites e paralisias.**

**Rinovirus**

**Mais de 100 sorotipos**

**Causam resfriados.**

**Hepatovírus**

**Hepatite A**

## **Propriedades dos picornavírus**

**Vírion icosaédrico, com 27nm.**

**Genoma é um RNA+, infectante com aproximadamente 7.500 bases.**

## **Patogenia dos poliovírus.**

**A boca é a porta de entrada, e a transmissão fecal-oral.**

**Replicação primária no epitélio da faringe e do intestino.**

**Partículas no intestino continuam detectáveis por semanas.**

**Anticorpos surgem rapidamente, em torno de cinco dias.**

**Viremia (vírus no sangue) ocorre entre dois e cinco dias.**

**Multiplicação nos gânglios linfáticos, infecção dos nervos periféricos.**

**Migração para o SNC, sendo os nervos motores inferiores o primeiro alvo.**

Após um período de incubação de 7 a 14 dias, as manifestações clínicas podem ser:

### **Poliomielite abortiva**

**Poliomielite não paralítica** (meningite asséptica, com rigidez e dor na nuca).

**Poliomielite paralítica** (paralisia resultante da lesão dos neurônios motores inferiores, pode progredir e atingir os centros de controle respiratório, e levar a óbito).

Existem três tipos, os pólios 1, 2 e 3.

A imunidade é tipo-específica.

## **Prevenção**

**A prevenção da pólio mudou radicalmente nas décadas de 50 e 60 com o aparecimento de vacinas efetivas, a partir do cultivo desses vírus em células.**

**Salk - inativada por formol (polios 1, 2 e 3).**

**Estimula imunidade sérica.**

**Sabin – viva, atenuada (mutantes dos polios 1, 2 e 3).**

**Estabilizada por  $MgCl_2$  por até um ano a 4°C.**

**Estimula abs IgA de mucosa, além da imunidade sérica pois replica-se no epitélio intestinal.**

**A versão trivalente oral é a mais utilizada mundialmente.**

**No processo de atenuação os vírus foram cultivados em linhagens celulares não humanas e a temperatura mais baixa.**

**A adaptação leva ao acúmulo de mutações e à perda da virulência.**

<b>Característica</b>	<b>Inativada (Salk)</b>	<b>Atenuada (Sabin)</b>
<b>Previne a doença</b>	<b>Sim</b>	<b>Sim</b>
<b>Induz IgG humoral</b>	<b>Sim</b>	<b>Sim</b>
<b>Induz IgA ao nível intestinal</b>	<b>Não</b>	<b>Sim</b>
<b>Permite uma proteção secundária pela disseminação à comunidade</b>	<b>Não</b>	<b>Sim</b>
<b>Interfere na replicação do vírus selvagem no intestino</b>	<b>Não</b>	<b>Sim</b>
<b>Reverte à virulência</b>	<b>Não</b>	<b>Sim (raramente)</b>
<b>Coinfecção com outros enterovírus compromete a imunização</b>	<b>Não</b>	<b>Sim</b>
<b>Pode causar doença em indivíduos imunocomprometidos</b>	<b>Não</b>	<b>Sim</b>
<b>Via de administração</b>	<b>Injetável</b>	<b>Oral</b>
<b>Requer refrigeração</b>	<b>Não</b>	<b>Sim</b>
<b>Duração da imunidade</b>	<b>Mais curta</b>	<b>Mais longa</b>

## As “gerações” de vacinas virais

<b>1ª geração animais</b>	<b>2ª geração ovos embrionados</b>	<b>3ª geração cultura celular</b>	<b>4ª geração DNA recombinante</b>
<b>Varíola Raiva</b>	<b>Febre amarela Influenza</b>	<b>Poliomielite Sarampo Caxumba Rubéola</b>	<b>Hepatite B Palilomavirus Rotavírus</b>
<b>Até 1900</b>	<b>Até 1950</b>	<b>Até 1970</b>	<b>Hoje</b>

## **Principais vacinas virais em uso**

<b>Vacina</b>	<b>Fonte</b>	<b>Tipo</b>	<b>Rota</b>	<b>OBS.</b>
<b>Varíola</b>	<b>Linfa de animais</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Escarificação no braço</b>	<b>Erradicada</b>
<b>Febre amarela</b>	<b>Ovos embrionados</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Imunização prolongada</b>
<b>Influenza</b>	<b>Ovos embrionados</b>	<b>Inativada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Em torno de 70% de eficiência (variação)</b>
<b>Pólio</b>	<b>Células diplóides Humanas/macacos</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Oral</b>	<b>Alta eficácia</b>
<b>Pólio</b>	<b>Células diplóides Humanas/macacos</b>	<b>Inativada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Alta eficácia</b>
<b>Sarampo</b>	<b>Células de embrião de galinha</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>MMR (vacina tríplice) Imunização prolongada 90% de eficiência</b>
<b>Rubéola</b>	<b>Células diplóides Humanas</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>MMR (idem)</b>
<b>Caxumba</b>	<b>Células de embrião de galinha</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>MMR (idem)</b>
<b>Raiva</b>	<b>Células diplóides Humanas</b>	<b>Inativada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Administrada pós-infecção</b>
<b>Raiva</b>	<b>Cérebro de roedores</b>	<b>Inativada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Não é mais utilizada</b>
<b>Hepatite B</b>	<b>Soro humano</b>	<b>Inativada (subunidade)</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Não é mais utilizada</b>
<b>Hepatite B</b>	<b>Levedura</b>	<b>subunidade</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Recombinante</b>

<b>Vacina</b>	<b>Fonte</b>	<b>Tipo</b>	<b>Rota</b>	<b>OBS.</b>
<b>Varicela Zóster (Herpes 3)</b>	<b>Células diplóides Humanas</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Subcutânea</b>	<b>Contra catapora e Herpes Zóster</b>
<b>Hepatite A</b>	<b>Células diplóides Humanas</b>	<b>Inativada</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Há outras versões Atenuada, etc</b>
<b>Papilomavírus (6, 11, 16, 18)</b>	<b>Levedura</b>	<b>Subunidade</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Recombinante</b>
<b>Rotavirus</b>	<b>Células diplóides Humanas</b>	<b>Atenuada</b>	<b>Oral</b>	<b>“Rearranjo de genomas”</b>
<b>SARS-Cov-2</b>	<b>Células diploides Outras fontes</b>	<b>Inativada Atenuada Outras</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Serão comentadas em detalhes na aula específica</b>

## **Calendários de imunização**

<http://portal.saude.gov.br/portal/saude>

**Programa Nacional de Imunização**

<https://sbim.org.br/calendarios-de-vacinacao>



Conseguiremos repetir a proeza da erradicação para outros vírus além da Varíola?

**Tentamos erradicar a Poliomielite e o Sarampo mas falhamos.**

É fundamental um maior investimento não só no aperfeiçoamento das vacinas já utilizadas, testes clínicos das recém desenvolvidas, bem como no desenvolvimento de novas vacinas para vírus como o HIV, os vírus da dengue e o SARS-CoV-2.

# **Estratégias para obter novas vacinas**

# **Métodos clássicos**

## **Inativação**

**Como por agentes químicos (Ex.: formalina) ou físicos (Ex.: irradiação).**

## **Atenuação**

**Isolar novas cepas com menor potencial patogênico.**

**Ex.: Induzir mutações em laboratório e selecionar mutantes.**

## **Vacinas baseadas em proteínas recombinantes**

**Consistem em clonar genes de proteínas virais em sistemas de expressão para obter proteínas em grande quantidade:**

**Bactérias    Leveduras**

## **Vacinas baseadas em peptídeos sintéticos**

**Peptídeos que contêm epítomos de células B ou T são capazes de induzir resposta humoral ou celular.**

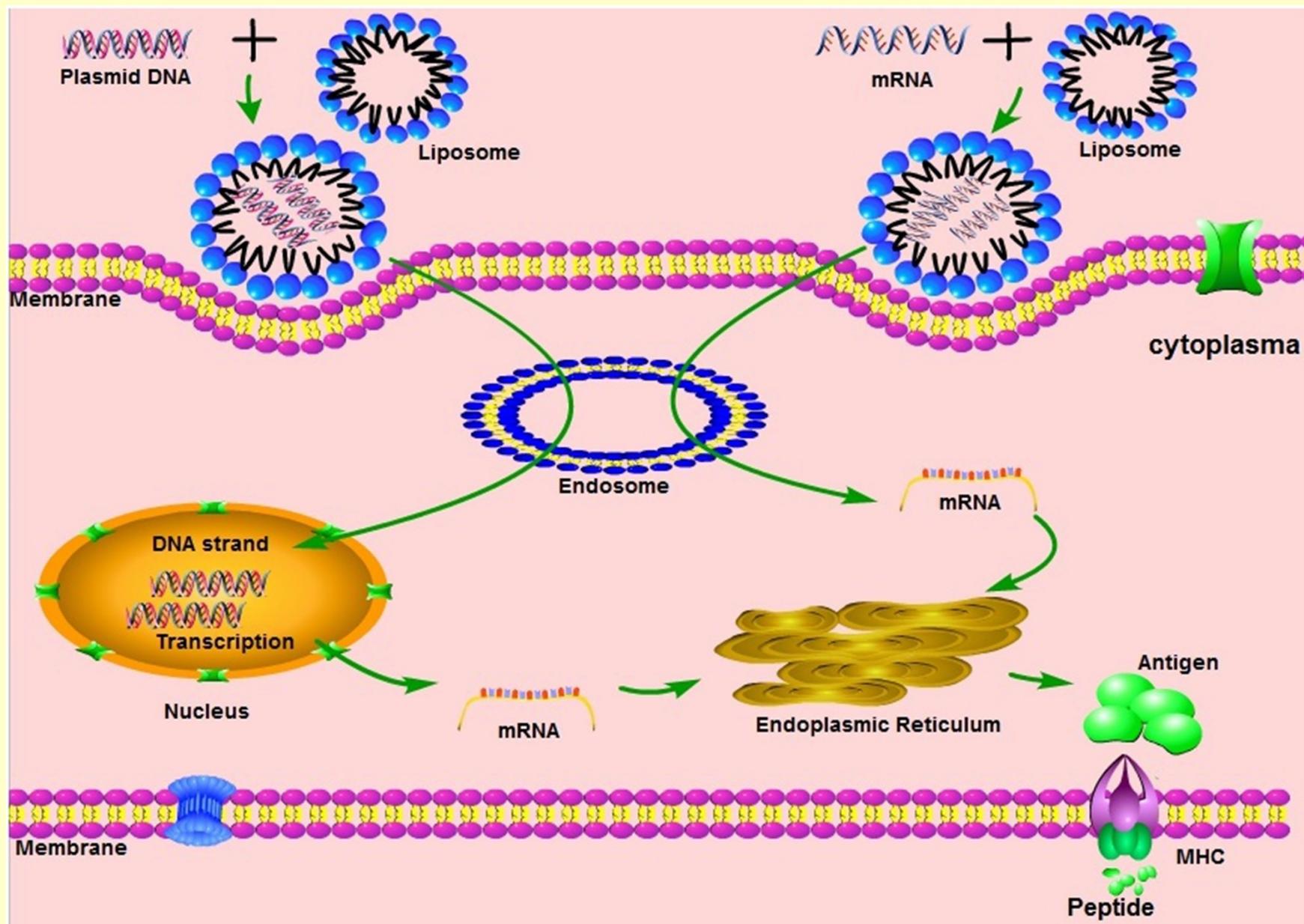
## **Vacinas de DNA**

**Consistem em clonar genes de proteínas virais em plasmídeos bacterianos sob o controle de cassetes de expressão eucarióticos (entre um promotor e um sinal de poli-adenilação).**

## **Vacinas de mRNA**

**Consistem em clonar genes de proteínas virais em plasmídeos bacterianos sob o controle de cassetes de expressão procarióticos para produção de RNA *in-vitro* (em grande quantidade).**

**Após incorporação pelas células do tecido inoculado esse antígeno é expresso e apresentado ao sistema imune.**



## **Manipulando os vírus para obter vetores vacinais**

Mais usados:

Vaccínia e pox vírus animais

Adenovírus humanos e animais

A estratégia é clonar genes de proteínas dos vírus patogênicos (antígenos selecionados) nos genomas dos vetores virais.

Após infecção das células do tecido alvo escolhido, com os vetores vacinais, esse antígeno é expresso e apresentado ao sistema imune.

Vetores vacinais foram desenvolvidos para o HIV, SARS-Cov-2, entre outros.

# **Imunogenicidade e adjuvantes**

**Nem sempre um antígeno ou microrganismo, que se pretende utilizar como vacina é imunogênico e seguro.**

**É necessário elaborar uma formulação vacinal cuja imunogenicidade pode ser aumentada pela associação de um adjuvante.**

**Depois de comprovada a imunogenicidade e segurança da formulação vacinal em modelos animais são feitos testes em humanos.**

**Os adjuvantes mais comuns em vacinas utilizadas em humanos são os sais de alumínio (hidróxido e fosfato).**

**O desenvolvimento de novos adjuvantes, mais potentes e seguros, é uma área importante em vacinologia (ex.: saponinas, proteínas, lipossomos)**

# Guia de estudos

Como Jenner construiu a hipótese que levou ao desenvolvimento da primeira vacina segura da história?

Qual a estratégia da OMS, e que características da doença e da vacina, tornaram possível a erradicação da varíola?

Porque uma vacina é eficiente na prevenção de doenças causadas por microrganismos?

Considerando as vacinas Salk e Sabin contra a poliomielite, quais as vantagens e desvantagens que apresentam as vacinas obtidas por inativação e atenuação?

Quais metodologias causaram impactos significativos na obtenção de vacinas virais e porquê?

Qual das abordagens atualmente utilizadas no desenvolvimento de vacinas virais atrai mais a sua curiosidade? Faça um comentário do porquê.

Qual a importância dos adjuvantes nas formulações vacinais? Faça uma pesquisa e indique três adjuvantes utilizados em formulações vacinais modernas.