

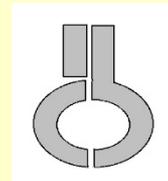
Vacinas Virais

Integrado de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP)

para Farmácia – 0420136

Prof. Armando Ventura

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



Falamos de várias vacinas contra vírus ao longo das aulas até aqui.

Pontos centrais comentados com impacto no desenvolvimento das vacinas:

Domínio do cultivo de vírus humanos.

Conhecimento da interação vírus-hospedeiro.

Os modelos gerais de vacinas podem ser baseados em:

Atenuação.

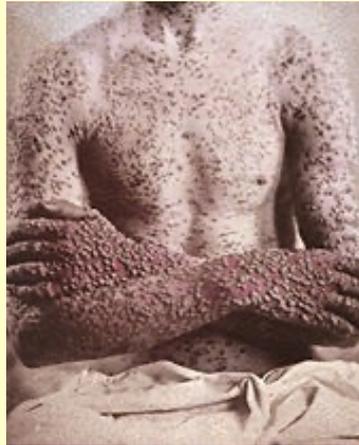
Inativação.

Manipulação dos genomas virais.

Nesta aula comentaremos sobre a história e evolução das vacinas virais, complementando o que foi abordado até aqui.

Jenner e a variolação

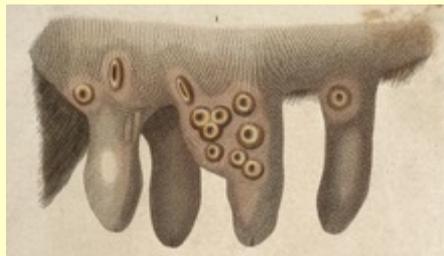
A varíola é uma doença de evolução rápida, após duas semanas de incubação começam os sintomas, culminando com as pústulas na pele, e em 30% dos casos (varíola major) evolução para hemorragia grave e morte.



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 (“varíola das vacas”).





EDWARD JENNER INOCULATES JAMES PHIPPS
BY ROBERT THOM, University of Michigan Museum of Art



A cartoon from 1802 depicting Jenner vaccinating

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 Nemes 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).

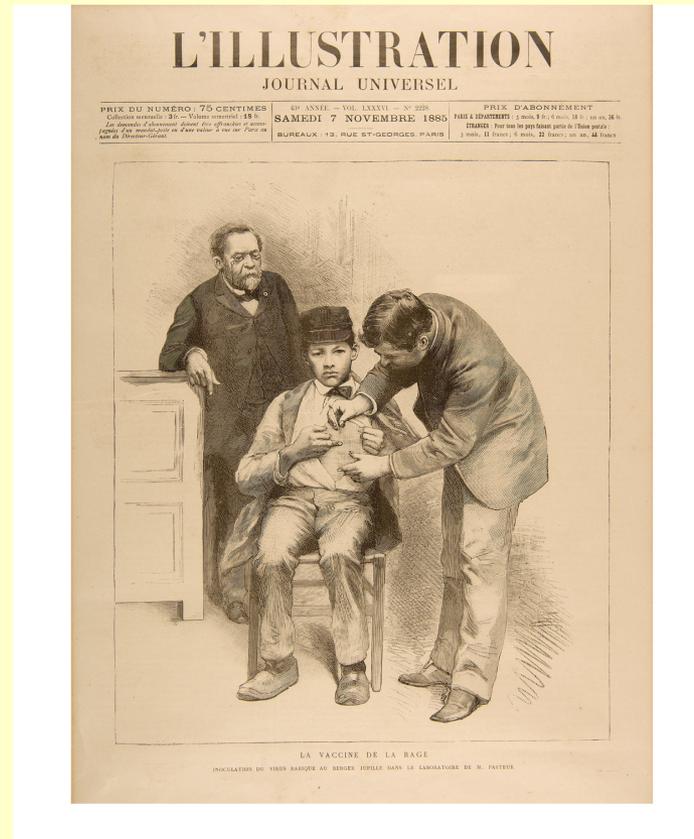
Essa vacina baseou-se na atenuação da bactéria.



Harper's Weekly, January 3, 1895. Laboratory worker using autoclave to sterilize chicken broth.

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.



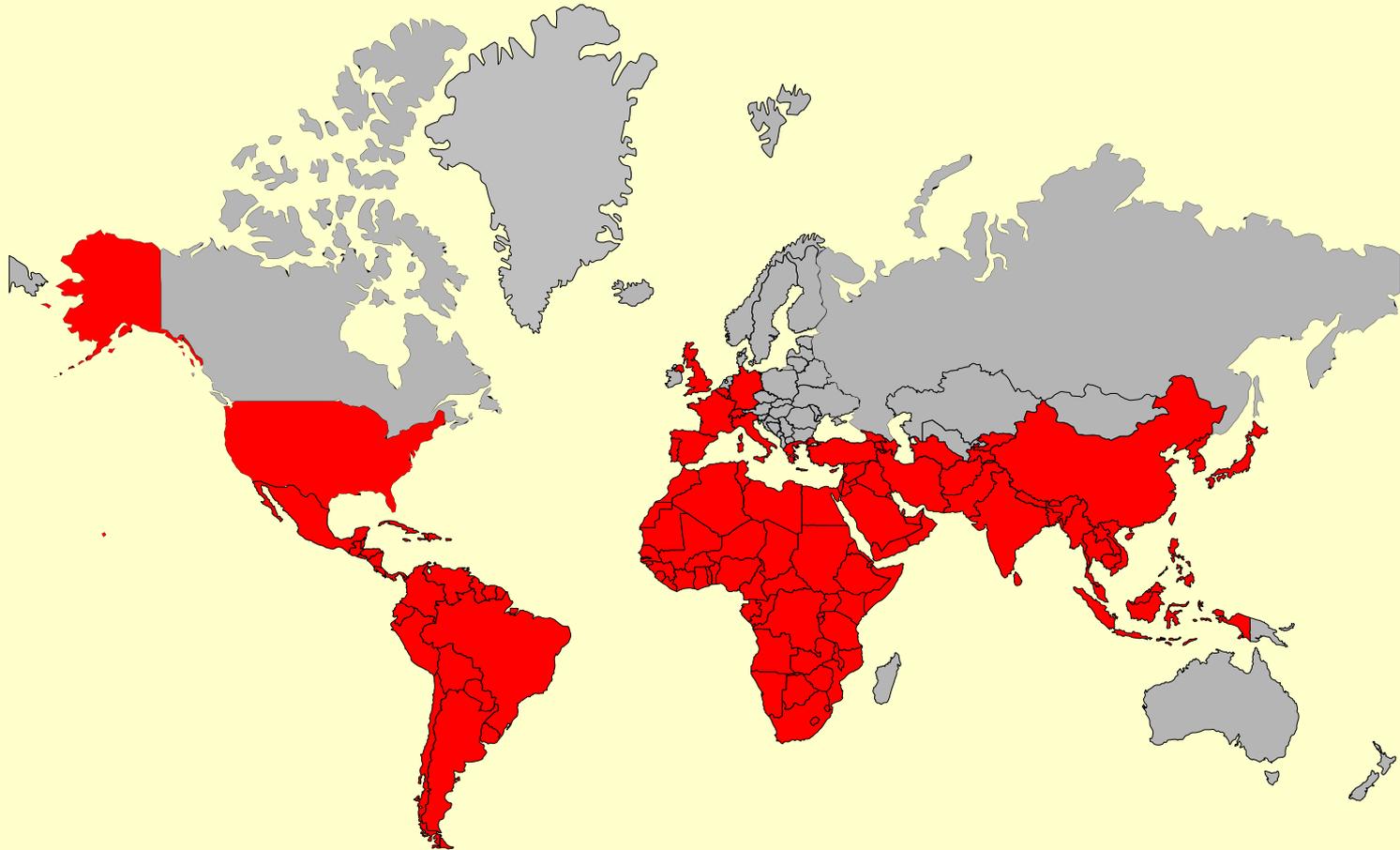
Erradicação da varíola

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.

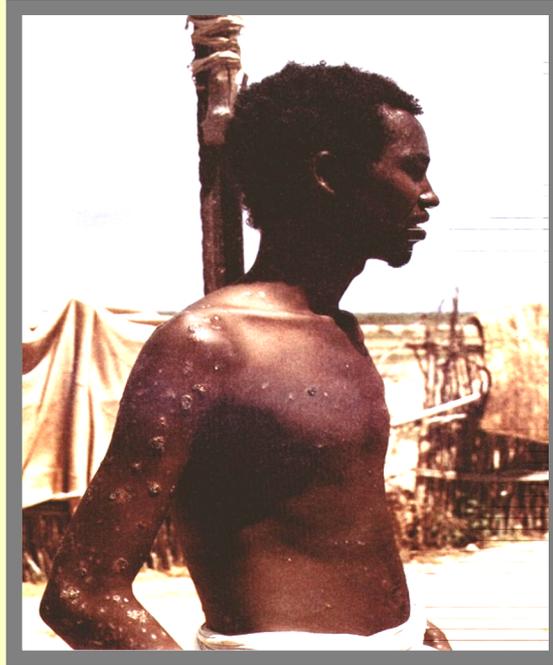
Áreas endêmicas de varíola em 1945



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**.



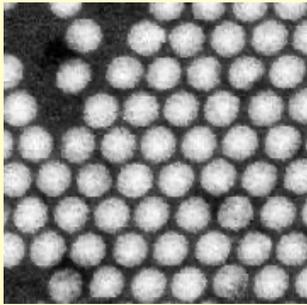


Ali Maow Maalin
Último caso por transmissão natural em 1977 na Somália.

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

Potencial utilização como arma biológica...

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.

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

As “gerações” de vacinas virais

1ª geração animais	2ª geração ovos embrionados	3ª geração cultura celular	4ª geração manipulação genica
Varíola Raiva	Febre amarela Influenza	Poliomielite Sarampo Caxumba Rubéola	Hepatite B Palilomavirus Rotavírus Coronavírus
Até 1900	Até 1950	Até 1970	Hoje

Principais vacinas virais em uso

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

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

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?

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?

Comente sobre o impacto que o atual painel de vacinas virais tem sobre a saúde humana, e sobre a importância de haver um sólido programa nacional de imunização?

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.