

Vacinas contra a infecção pelo SARS-CoV-2

Thiago Cerqueira-Silva¹

Ana Beatriz M. D. G. de Andrade²

Manoel Barral-Netto³

Viviane Boaventura⁴

-
- 1 Aluno do programa MD/PhD da Universidade Federal da Bahia (UFBA) no Instituto Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) da Bahia e do grupo de pesquisas Neurocardio da UFBA.
 - 2 Graduanda em Medicina pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Estudante de Iniciação Científica da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) da Bahia.
 - 3 Médico e doutor em Patologia, professor titular aposentado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e pesquisador titular da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) da Bahia, onde é chefe do Laboratório de Inflamação e Biomarcadores. Atua na área de imunologia das doenças infecto-parasitárias.
 - 4 Médica, com mestrado e doutorado em patologia pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). É professora adjunta Faculdade de Medicina da Bahia da UFBA, e pesquisadora da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Investiga aspectos clínicos e imunológicos de doenças infecciosas.

CERQUEIRA-SILVA, T.; ANDRADE, A. B. M. D. G. de; BARRAL-NETTO, M.; BOAVENTURA, V. Vacinas contra a infecção pelo SARS-CoV-2. In: BARRAL-NETTO, M.; BARRETO, M. L.; PINTO JUNIOR, E. P.; ARAGÃO, E. (org.). *Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais*. Salvador: Edufba, 2020. v. 1. DOI: <https://doi.org/10.9771/9786556300443.009>.

Aspectos gerais da vacina anti-COVID-19

O SARS-CoV-2 demonstrou uma elevada taxa de transmissão e foi capaz de, em cerca de seis meses, infectar mais de 10 milhões de indivíduos em vários locais do planeta, causando mais de 500 mil óbitos. (RITCHIE et al., 2020) Adicionalmente, sabe-se que esses números estão subestimados, devido à incapacidade de realizar os testes diagnósticos confirmatórios em todas as infecções e óbitos causados pelo SARS-CoV-2. Discutimos a seguir a importância e os obstáculos para obter uma vacina eficaz anti-SARS-CoV-2.

Por que precisamos de uma vacina anti-SARS-CoV-2?

Quando grande parte da população tem proteção imunológica contra um agente infeccioso, mesmo indivíduos sem resposta imune específica contra esse agente estão protegidos. Esse fenômeno é conhecido como imunidade comunitária (RANDOLPH; BARREIRO, 2020), mais frequentemente citada como imunidade de rebanho. A proteção, nesse caso, é indireta, pois uma elevada frequência de indivíduos imunes dificulta a passagem do vírus entre os indivíduos, reduzindo a sua disseminação. A imunidade comunitária pode ser atingida pela transmissão livre do vírus entre os indivíduos suscetíveis, ou pela imunização com uma vacina efetiva.

No caso do SARS-CoV-2, o custo de vidas humanas para atingir imunidade comunitária pela infecção natural é muito elevado. Por se tratar de um vírus que não teve contato prévio com humanos, praticamente

toda a população era suscetível a ele no início da sua expansão, levando a uma disseminação não controlada. Adicionalmente, o vírus demonstrou uma elevada taxa de transmissão em muitos locais, demonstrado matematicamente pelo R_0 , número básico de reprodução: isto é, o número de pessoas que alguém infectado consegue transmitir. Os primeiros relatos registram um R_0 de 2,2 e as publicações mais recentes em torno de 5,7. (KE et al., 2020) O R_0 varia de acordo com as características da população na qual o vírus circula. No caso do SARS-CoV-2, devemos considerar também que os cálculos dependem da confirmação dos casos suspeitos através de testes diagnósticos, cujo emprego variou muito em diferentes locais. Temos, assim, uma incerteza importante no cálculo do R_0 desse vírus. Assumindo que o R_0 do SARS-CoV-2 seja 3, seria necessário que cerca de 70% da população apresentasse proteção contra o vírus para que ocorresse a imunidade comunitária. Esse dado sugere que, após a onda epidêmica da COVID-19 em 2019 e 2020, estaremos muito distantes de atingir imunidade comunitária, o que reforça a necessidade de que uma vacina eficiente seja desenvolvida rapidamente. A importância da vacina também pode ser reforçada pela baixa taxa de soroconversão em populações de países atingidos fortemente pela COVID-19 – em média, soropositividade entre 5 e 10%. (STRINGHINI et al., 2020; XU et al., 2020) Contudo, existe a possibilidade de a imunidade ao SARS-CoV-2 ser independente do nível de anticorpos circulantes, tornando inquéritos sorológicos pouco eficientes em avaliar imunidade comunitária. (SEKINE et al., 2020)

Podemos esperar o desenvolvimento rápido de uma vacina contra a COVID-19?

A maioria das vacinas existentes contra vírus tem por base a estimulação da produção de anticorpos de forma duradoura. Quando a infecção natural induz a produção de anticorpos capazes de

proteger contra uma infecção posterior, a chance de produzir uma vacina tende a ser maior. Algumas publicações recentes mostram que essas condições estão presentes na COVID-19. (TO et al., 2020) Contudo, não há garantia de que o desenvolvimento de uma vacina protetora contra o SARS-CoV-2 ocorrerá de forma rápida, pois conhecemos ainda muito pouco sobre o vírus.

Várias características dos vírus podem dificultar o desenvolvimento de uma vacina, como acontece com o vírus da influenza, que apresenta uma elevada taxa de mutação, o que torna necessárias formulações vacinais anuais. Ainda não foi possível desenvolver uma vacina contra o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), isolado em 1983, pois ele apresenta uma evolução rápida. Somente após conhecer mais sobre o comportamento do vírus, ao longo do tempo, poderemos saber com mais precisão quais as possibilidades para o desenvolvimento de uma vacina efetiva. Além dos aspectos ligados ao vírus, há diversos elementos do sistema imune que também podem dificultar o desenvolvimento rápido de uma vacina e que serão tratados em outro tópico.

Um outro elemento importante é a segurança de uma vacina. No caso da COVID-19, a vacina será aplicada num número extremamente grande de indivíduos num curto espaço de tempo: por isso, precisa ser altamente segura. Além da possibilidade de efeitos inesperados, como o desenvolvimento de lesões em órgãos, será crucial garantir que a vacina não estimula respostas imunes não desejadas, como anticorpos facilitadores que permitem maior replicação viral, por exemplo.

Um outro aspecto importante numa vacina é a durabilidade do seu efeito, ou seja: após a vacinação, a proteção deve perdurar por um tempo prolongado. Isso é difícil de prever no momento, pois a COVID-19 é muito recente: por isso, não é possível confirmar se a proteção conferida é duradoura mesmo após casos graves, nos quais ocorre intensa estimulação do sistema imune.

Além disso, é necessário avaliar o grande desafio de produzir as vacinas em larga escala. Considerando que grande parte da população mundial necessitará da vacina, a sua produção precisará ser enorme, e a construção, ou adaptação de infraestrutura para sua produção em massa precisa ser desenvolvida com rapidez.

Considerando todos esses aspectos, é mais realista esperar que as primeiras vacinas desenvolvidas não tenham todos os elementos ideais e venham a ser substituídas por vacinas mais eficazes e seguras, e com efeito duradouro.

Bases imunológicas e aspectos de segurança

Antes de discutir as vacinas em desenvolvimento contra o SARS-CoV-2, é importante compreender como funcionam os mecanismos de defesa e quais aspectos de segurança devem ser analisados antes da liberação de uma vacina para a COVID-19.

Bases imunológicas das vacinas

A maioria das vacinas visa desenvolver memória imunológica para a produção de anticorpo (resposta humoral). Os anticorpos ou Imunoglobulinas (Ig) são proteínas secretadas que podem se ligar a partículas do vírus e são capazes de, entre outras funções, neutralizar o patógeno, impedir a invasão das células e facilitar sua destruição por outras células do sistema de defesa. Os anticorpos exercem seu papel de neutralização antes que o vírus invada a célula. Para que a neutralização seja efetiva, os anticorpos precisam ser produzidos com qualidade e quantidade adequados no local da infecção.

A qualidade do anticorpo é avaliada pela sua afinidade e especificidade. O anticorpo deve bloquear o vírus e associar-se de forma duradoura à proteína viral no seu estado conformacional. Anticorpos direcionados contra SARS-CoV não são capazes de

neutralizar o SARS-CoV-2. (OU et al., 2020) A afinidade do anticorpo pelo seu alvo também é variável. Durante infecções, os anticorpos inicialmente secretados são geralmente do tipo IgM, que costumam ter menor afinidade ao seu alvo, quando comparados a anticorpos secretados mais tardiamente, como IgG e IgA.

Os anticorpos induzidos por vacina precisam ser direcionados contra proteínas essenciais e estáveis do vírus: isto é, que sofram baixa taxa de mutação, ainda que surjam variantes. Várias estratégias de vacina para Covid-19 têm como objetivo a indução de resposta imune humoral contra a glicoproteína da espícula do coronavírus (S). Essa proteína tem sido apontada como peça-chave para a entrada do vírus na célula hospedeira, pela sua ligação à Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2), para, em seguida, fundir-se à célula hospedeira. (WRAPP et al., 2020) Essas proteínas sofrem variação conformacional, com mudanças nas pequenas sequências de aminoácidos responsáveis pela ligação do vírus antes e após a sua fusão com a célula hospedeira. Dessa forma, algumas formulações propostas de vacinas têm associado moléculas que garantem a estabilidade conformacional da proteína num estágio pré-fusão, já que os anticorpos protetores precisam se ligar antes que o vírus invada a célula.

É desejável que a vacina induza a produção de anticorpos contra alvos variáveis. Dessa maneira, são induzidas respostas a diferentes componentes do vírus, potencializando a chance de resposta. Têm sido testadas formulações de vacina para COVID-19 contendo vírus atenuado ou vírus inativado. Das 18 vacinas em estudos clínicos no momento, quatro têm na sua composição o vírus inativado, com ou sem associação com substâncias adjuvantes. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020) Essa associação tem o objetivo de potencializar o estímulo ao sistema imunológico, de maneira a desenvolver maior proteção.

Uma vacina com um vírus atenuado também tem sido proposta. Nessa perspectiva, tem-se investido na inserção de

antígenos – componentes do vírus que induzem uma resposta imunológica – do SARS-CoV-2, como a sequência responsável pela produção da proteína S, no genoma de um outro vírus capaz de se replicar, mas sem causar doença. (COHEN, 2020)

Para que os anticorpos tenham alta capacidade de ligação a partículas importantes para a invasão do vírus, são necessários níveis elevados da proteína no sítio da infecção. No contexto do SARS-CoV-2, será necessário que os anticorpos sejam secretados no trato respiratório, sítio apontado como porta de entrada para o vírus no organismo. Anticorpos secretados nas mucosas do trato respiratório são do tipo IgA. Embora não tenhamos informação sobre os níveis de produção de IgA no trato respiratório de pacientes em fase de convalescência da COVID-19, parece haver correlação entre produção de IgA sérica e sua capacidade de neutralização do vírus (OKBA et al., 2020), sugerindo que esse anticorpo deve ter papel importante na defesa contra SARS-CoV-2. Dessa forma, uma vacina protetora deve determinar aumento da secreção desses anticorpos no sítio da infecção.

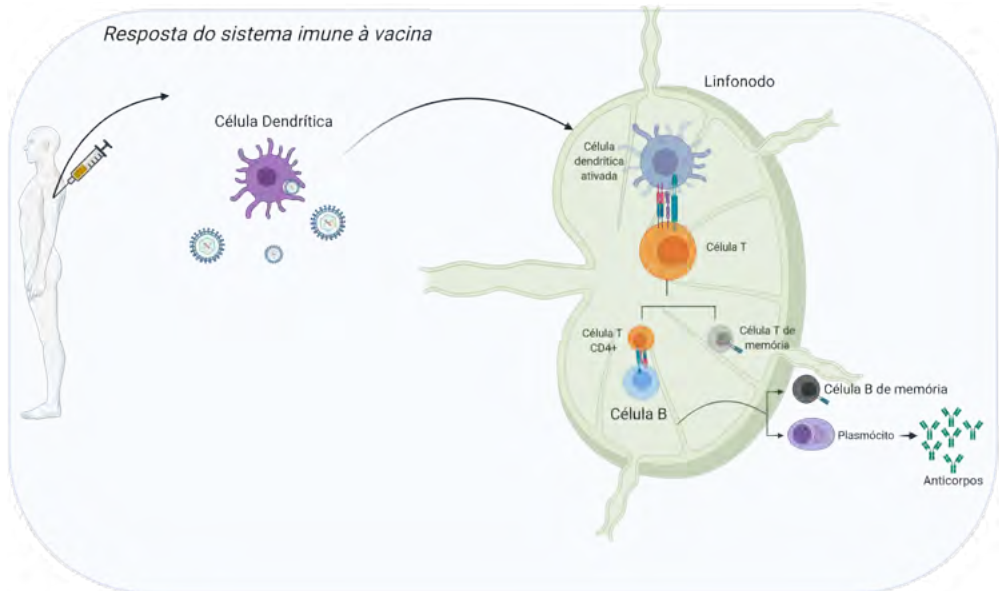
Por que é importante induzir uma resposta celular?

Tem sido reconhecida a importância da resposta celular na proteção contra o SARS-CoV-2, com ativação de células T CD4 e CD8. A produção de anticorpos distintos da IgM depende da ativação de células T CD4+ agindo como células T auxiliaadoras. A partir desse estímulo, as células B produtoras de IgM passam a secretar também IgA e IgG.

Além da resposta humoral com produção de anticorpos neutralizantes, a resposta celular é importante na prevenção de novas infecções. Na enfermidade causada pelo SARS-CoV, enquanto anticorpos específicos foram detectados por período mais curto (WU et al., 2007), células de memória T CD8 específicas para SARS-CoV foram observadas até seis anos após a infecção. (LIU et al., 2017) Elas atuam induzindo a morte da célula infectada

e produzindo citocinas que estimulam outras células de defesa. Assim, vacinas que combinam respostas humorais e celulares deverão ser necessárias para promover proteção duradoura contra o SARS-CoV-2.

Figura 1 – Demonstração da indução de resposta humoral e celular pós-vacina⁵



Fonte: elaborada pelos autores.⁶

- 5 A partir da inoculação da vacina, células do sistema de defesa entram em contato com partículas do vírus que compõem a vacina. Esse material do vírus é transportado até órgãos de defesa (por exemplo, linfonodo), onde estimulam uma resposta humoral – de produção de anticorpos após a ativação de linfócitos B – e celular – mediada por linfócitos T CD4+, entre outros. São formadas células capazes de guardar memória desse encontro e, quando o indivíduo se expõe novamente ao mesmo vírus, os mecanismos de defesa das células de memória agem prontamente, conferindo proteção.

- 6 Criada com biorender.com.

Qual o papel da resposta inata na proteção induzida por uma vacina?

A resposta imune inata confere proteção geral e inespecífica a agentes estranhos ao corpo e é composta por barreira física (como a pele), a microbiota e células do sistema imune, como macrófagos. Embora inespecífica, a ativação da resposta inata por um determinado agente pode modificar a infecção subsequente por outro tipo de patógeno, em um mecanismo conhecido como memória inata. Isso ocorre porque células da imunidade inata sofrem mudanças epigenéticas a partir da exposição a uma infecção e podem levar a um estado de ativação dessas células, o que confere vantagem numa exposição subsequente. Isso já foi sugerido para o SARS-CoV-2, pois estudos epidemiológicos indicaram que a vacinação com *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) poderia ter efeito protetor contra COVID-19.

Esses estudos carecem de evidências confirmatórias, como será abordado em outra parte deste capítulo. Entretanto, o papel de componentes da imunidade inata –microbiota, citocinas e células fagocíticas, por exemplo – no desenvolvimento de uma resposta protetora induzida por vacina tem sido discutido. Há evidências de que a microbiota intestinal e nasal exerçam influência na resposta celular e humoral à vacina, potencializando e inibindo a produção de anticorpos específicos após a vacinação (LYNN; PULENDRAN, 2017; SALK et al., 2016), mas ainda faltam estudos clínicos que confirmem esse papel da microbiota. Altos níveis de citocinas e células inflamatórias da imunidade inata correlacionaram-se à falha no desenvolvimento de resposta protetora após a vacina para hepatite B em pacientes idosos. (FOURATI et al., 2016) Assim, fatores relacionados ao estado da resposta imune inata dos indivíduos também poderão influenciar no sucesso da estratégia de vacinação para SARS-CoV-2.

Qual a via de inoculação para uma vacina para COVID-19?

Vacinas podem ser administrados por via intradérmica (como a BCG), subcutânea (febre amarela), intramuscular (hepatite B), oral (rotavírus) e intranasal (algumas formulações para influenza). A escolha da via de administração da vacina, que pode determinar o sucesso da imunização, depende da composição e do tipo de resposta imune que se deseja obter. Vacinas com adjuvantes, como alumínio, precisam ser administradas por via intramuscular para evitar efeitos indesejáveis no local da aplicação. Adicionalmente, deve-se avaliar se há transporte adequado da substância inoculada até o local onde será montada uma resposta de defesa. No caso do SARS-CoV-2, essa resposta deverá resultar em proteção no principal sítio de entrada e de estabelecimento da infecção: o trato respiratório. Considerando as formulações de vacinas testadas no momento em ensaios clínicos, ao menos 11 utilizam a via intramuscular, uma usa a via intradérmica, e não foi identificada a via das restantes. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020)

Como avaliar se houve proteção induzida pela vacinação?

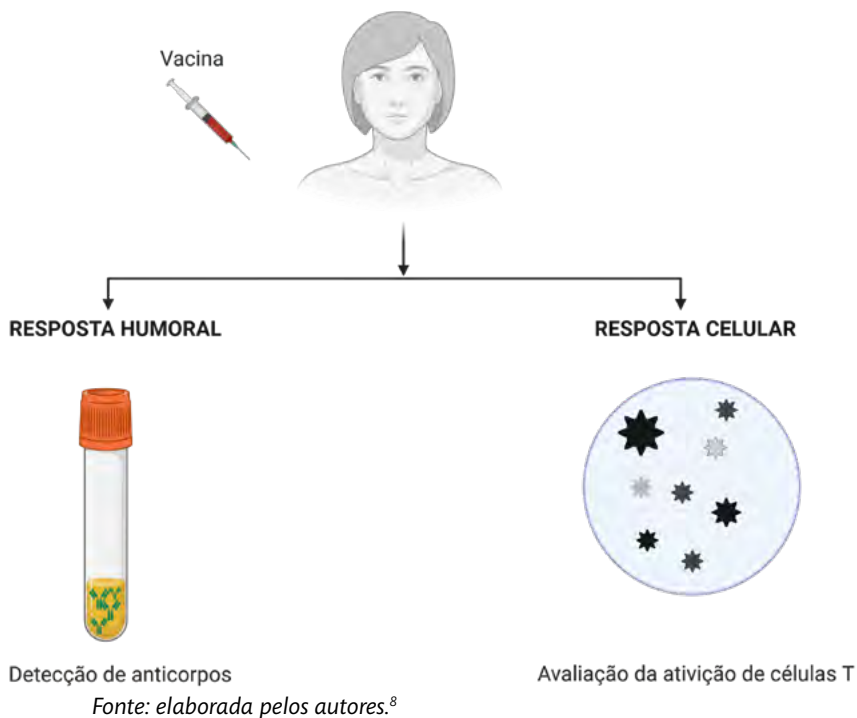
As estratégias para avaliar proteção após a vacinação incluem dosagem de anticorpos específicos e avaliação da atividade de células T específicas. No primeiro estudo publicado com vacina para COVID-19 em humanos, foi utilizado um vetor de Adenovírus (Ad5) não replicante para carrear a glicoproteína S. A resposta protetora foi avaliada por dosagem de anticorpos específicos circulantes e da capacidade de neutralização desses anticorpos. Nesse estudo, dados de resposta imune nos primeiros 28 dias após a vacinação mostraram correlação positiva entre os níveis de anticorpos anti-RBD e a sua capacidade de neutralização do vírus vivo. (ZHU et al., 2020)

Na avaliação da resposta celular, mensura-se a resposta de células T (CD4 e CD8) específicas contra o vírus. Isso pode ser feito ao detectar a produção de citocinas por clones de células T estimuladas por antígeno do vírus, em um ensaio conhecido

como Enzyme-Linked ImmunoSpot (ELISpot), ou em estudos de citofluorimetria.

As respostas humoral e celular precisam ser avaliadas de forma prospectiva, para estimar a duração da imunidade conferida pela vacina.

Figura 2 – Como testar se a vacina funcionou?⁷



⁷ Resposta humoral – anticorpos neutralizadores são produzidos por plasmócitos devido ao estímulo vacinal e podem ser identificados através do teste sorológico como o Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Elisa). Resposta celular – linfócitos são estimulados pela vacina a produzir citocinas. É possível descobrir se esse estímulo funcionou através de um teste que identifica as citocinas secretadas, de nome ELISpot.

⁸ Criada com biorender.com.

A imunização com outras vacinas induz proteção cruzada para COVID-19?

A vacinação contra outros vírus respiratórios não parecer ter efeito protetor para COVID-19. Entretanto, há fracas evidências que a imunidade induzida pela vacinação por BCG e pela vacina para parotidite, rubéola e sarampo (MMR) poderiam ter algum papel protetor. A vacina de BCG previne para formas graves da tuberculose e parece induzir proteção inespecífica para outras doenças por mecanismos como imunidade treinada. Estudos ecológicos sugeriram associação entre menor incidência de COVID-19 e maior taxa de vacinação para BCG (ESCOBAR; MOLINA-CRUZ; BARILLAS-MURY, 2020), mas a causalidade não foi investigada. No momento, há pelo menos dois estudos de ensaio clínico que avaliam se há proteção contra SARS-CoV-2 pela vacina por BCG. (DOESSCHATE et al., 2020)

Com a hipótese baseada na homologia estrutural do SARS-CoV-2 e do vírus atenuado da rubéola presente na vacina MMR, um estudo epidemiológico propôs que a vacina MMR poderia conferir alguma proteção contra formas graves da COVID-19. (FRANKLIN et al., 2020) Entretanto, essas hipóteses carecem de confirmação com outros desenhos de estudo e não existe evidência no momento para recomendação dessas vacinas na profilaxia de COVID-19.

Qual a importância dos aspectos de segurança no desenvolvimento de uma vacina para COVID-19?

Assim como para fármacos, um fator-chave para a liberação de uma vacina é sua segurança. Isso é particularmente importante para uma vacina contra a COVID-19, pois necessitará ser empregada em praticamente toda a população mundial. Com um enorme número de usuários, maior será a possibilidade de aparecimento de efeitos colaterais graves.

Antes de iniciar os testes em humanos, é preciso demonstrar que a substância não apresenta efeitos adversos graves em células, animais de grande porte e, especialmente, em primatas não humanos. Após essa fase, é preciso testar a segurança da nova vacina em um número pequeno de voluntários (Fase 1), e, se houver sucesso nessa etapa, o estudo poderá avançar para incluir um número maior de pessoas (Fase 2). Somente após se revelar segura nesse grupo, a vacina candidata será testada em um número grande de voluntários para avaliação da eficácia, ou seja, da capacidade de proteger contra o SARS-CoV-2 (Fase 3).

A segurança de uma vacina viral envolve a avaliação de duas questões específicas: o agravamento da doença respiratória associada à vacina – do inglês *Vaccine-Associated Enhanced Respiratory Disease* (Vaerd); e o aumento da infecção dependente de anticorpo – *Antibody-Dependent Enhancement* (ADE). Vaerd foi descrito após administração de uma vacina candidata à prevenção do vírus sincicial respiratório. Houve produção de anticorpos não neutralizantes, que levaram à formação de complexos antígeno-anticorpo, ativação do sistema complemento e vasculite. (KIM et al., 1969) Também houve desenvolvimento de resposta tipo Th2, com participação de eosinófilos e aumento de muco, assemelhando-se a um quadro alérgico. (RUCKWARDT et al., 2019) Na ADE, anticorpos incapazes de neutralizar efetivamente o vírus – subneutralizantes – facilitam a entrada do patógeno nas células que apresentam receptores para esses anticorpos, como macrófagos. Esse mecanismo é conhecido para infecções subsequentes por sorotipos diferentes da dengue (SRIDHAR et al., 2018), e também foi descrito em modelo experimental de infecção por influenza (WINARSKI et al., 2019), assim como para infecção por coronavírus em felinos. (TAKANO et al., 2017) Essas duas condições exemplificam a necessidade de investigar a segurança da vacina para SARS-CoV-2.

Metodologias de desenvolvimento da vacina anti-COVID-19

Todas as metodologias utilizadas na produção de vacinas partem de um princípio único: expor o organismo a partículas virais capazes de causar uma resposta imunológica: porém, sem causar doença. A partir de estudos conduzidos com os vírus SARS-CoV-1 e MERS-CoV, semelhantes ao SARS-CoV-2, sabe-se que a proteína S na superfície do vírus é um dos alvos mais promissores para a produção de uma vacina.

As metodologias utilizadas para produção de vacinas podem ser classificadas em quatro grupos:

1. Vacinas virais:
 - Vírus atenuado;
 - Vírus inativado.
2. Vacinas com vetor viral:
 - Vetor viral replicante;
 - Vetor viral não replicante.
3. Vacinas de ácidos nucleicos:
 - Vacinas DNA;
 - Vacinas RNA.
4. Vacinas de base proteica:
 - Subunidades de proteína;
 - Partícula semelhante a vírus.

Vírus atenuado

As vacinas de vírus atenuado são amplamente utilizadas. Atualmente, existem vacinas com essa metodologia para sarampo,

caxumba, rubéola, varicela, febre amarela, rotavírus e influenza. Esse tipo de vacina contém patógenos menos virulentos que as suas contrapartes naturais. O processo mais comum para produção de vírus atenuados é a infecção sequencial de vírus em culturas de linhagens de células *in vitro*, resultando em um vírus menos capaz de infectar células humanas.

Uma vez que a estrutura antigênica do vírus atenuado é semelhante à do vírus original, esse tipo de vacina induz uma resposta imunológica humoral e celular duradoura, o que é exemplificado pela necessidade de dose única de diversas vacinas que usam essa metodologia.

Dentre as desvantagens das vacinas de vírus atenuado, está a necessidade de uma infraestrutura especializada para o transporte e manutenção das vacinas. Além disso, esse tipo de vacina não deve ser fornecida a pacientes imunossuprimidos, devido ao risco de complicações.

Vírus inativado

As vacinas de vírus inativado são produzidas através do crescimento do vírus em meio de cultura celular e posteriormente inativados com calor ou produtos químicos (formalina). Esse método é utilizado para algumas vacinas, como, por exemplo, poliomielite e hepatite A. Uma vez que os vírus utilizados não possuem capacidade de se replicar, esse tipo de vacina necessita de múltiplas doses para produzir uma resposta imune duradoura, que se dá basicamente através da resposta imune humoral.

Vetor viral replicante

Esse tipo de vacina utiliza um vírus não patogênico como vetor para a expressão de antígenos dos patógenos aos quais se deseja estimular uma resposta imune. Esse tipo de vacina é capaz de induzir uma resposta imune semelhante àquela desenvolvida

quando utilizadas vacinas de vírus atenuado: isto é, resposta humoral e celular.

O vetor escolhido é um dos pontos críticos nesse tipo de vacina, uma vez que, caso haja exposição prévia ao vírus utilizado como vetor, há grande possibilidade de haver anticorpos neutralizantes circulantes, o que pode prejudicar a capacidade imunogênica da vacina.

Vetor viral não replicante

As vacinas de vetor viral não replicante são extremamente semelhantes às aquelas de vetor viral replicante: a diferença é que o vetor, nesse caso, pode infectar apenas uma célula. Portanto, a quantidade de exposição do antígeno ao sistema imune é bastante controlada. Apesar de não existir nenhuma vacina aprovada com essa metodologia, ela é bastante utilizada na terapia genética e diversas candidatas a vacinas contra o HIV utilizam esse método.

Ácidos nucleicos

As vacinas de DNA/RNA são construídas utilizando bactéria ou vírus que contêm a sequência genética do antígeno desejado – vacina de DNA utiliza plasmídeos e de RNA, mRNA. A partir da inoculação do plasmídeo, as células do hospedeiro produziram o antígeno imunogênico, e, em sequência, a resposta imunológica a ele, induzindo uma resposta imune celular e humoral.

Subunidade proteica

As vacinas de subunidade proteica são constituídas apenas pelo antígeno e adjuvantes: estes são produtos que potencializam a resposta imune do hospedeiro contra o antígeno da vacina. Assim, por não possuir componentes de vírus vivo, esse tipo de vacina não impõe risco de desenvolver doença. Contudo, podem ser necessários múltiplos reforços para induzir uma resposta imune duradoura. A vacina contra hepatite B utiliza essa metodologia.

Partícula semelhante a vírus

As partículas semelhantes a vírus (*Virus-Like Particles* - VLP) são proteínas capazes de se agrupar em uma conformação semelhante àquelas expressas pelo vírus vivo e, por não possuírem material genético do vírus, não há risco de desenvolver a doença. As VLPs são capazes de manter a conformação dos epítomos virais, induzindo uma reação imunológica celular e humoral. A vacina contra o Papilomavírus Humano (HPV) é um exemplo de vacina VLP.

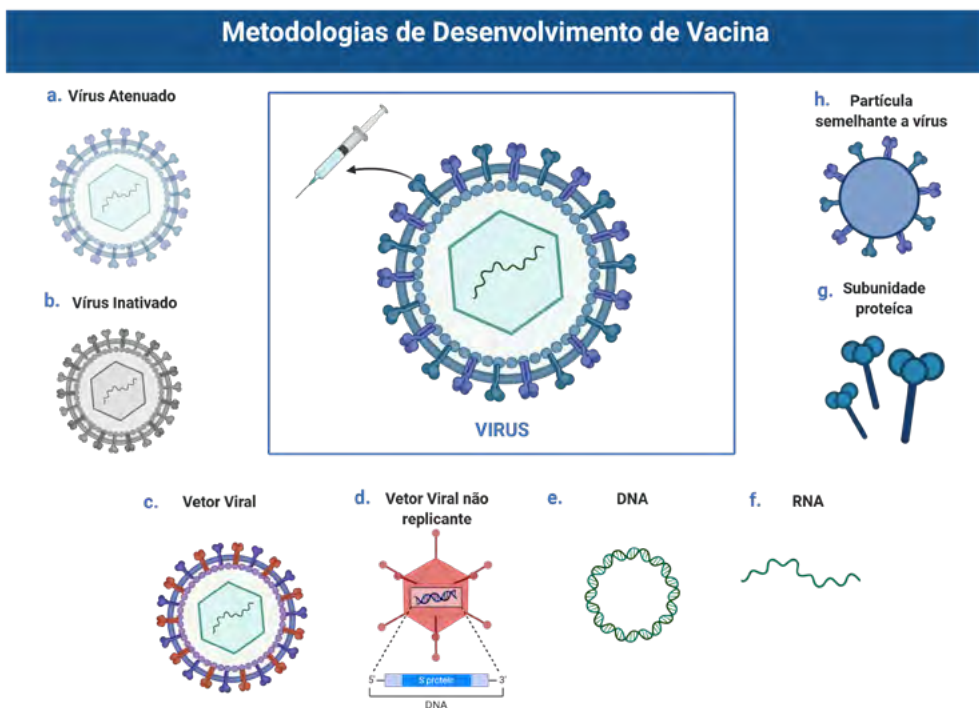
Quadro 1 – Vacinas em desenvolvimento para COVID-19: metodologias, alvos, vantagens e desvantagens

Metodologia	Alvo	Vantagens	Desvantagens
Vírus atenuado	Vírus completo	Metodologia utilizada em outras vacinas existentes. Dose única. Indução de uma resposta imune robusta, celular e humoral	Risco de reversão patogênica. Risco de infecção em paciente imunodeprimidos. Necessidade de infraestrutura para transporte e armazenamento. Tempo prolongado para produção em larga escala
Vírus inativado	Vírus completo	Metodologia utilizada em outras vacinas existentes. Fácil transporte e armazenamento	Necessita de múltiplas doses para induzir imunidade duradoura. Induz apenas resposta humoral
Vetor viral replicante	Proteína spike S ou S1	Alta capacidade de induzir resposta imune	Eficácia é dependente da taxa de pré-exposição da população ao vetor utilizado. Risco de reversão à forma patogênica do vírus
Vetor viral não replicante	Proteína spike S ou S1	Perfil de alta segurança. Alta capacidade de induzir resposta imune	Eficácia é dependente da taxa de pré-exposição da população ao vetor utilizado. Necessita de altas doses para induzir imunidade
DNA	Proteína spike S ou S1	Perfil de alta segurança. Existência de protótipo para SARS-CoV-1. Facilidade em expandir a produção. Estabilidade térmica	Imunogenicidade é altamente dependente do mecanismo utilizado para inoculação. Efeito desconhecido a longo prazo

Metodologia	Alvo	Vantagens	Desvantagens
RNA	Proteína spike S ou S1	Induz resposta robusta celular e humoral	Instabilidade
Subunidade proteica	Proteína spike S ou S1	Perfil de alta segurança. Pode induzir resposta imunológica celular e humoral	Necessita de múltiplas doses para induzir memória. Requer adjuvantes. Dificuldade em expandir a produção
Partícula semelhante a vírus	Proteína spike S ou S1	Induz resposta celular e humoral robusta	Processo de fabricação complexo

Fonte: elaborado pelos autores.

Figura 3 – Ilustração representando as oito metodologias mais utilizadas em testes para a produção da vacina do SARS-CoV-2



Fonte: elaborada pelos autores.⁹

⁹ Criada com biorender.com.

Aceleração de produção e aspectos éticos

A semelhança entre o SARS-CoV-2 com o SARS-CoV-1 e MERS-CoV permitiu um ponto de partida mais avançado na corrida para desenvolver a vacina para o novo coronavírus.

No dia 17 de abril de 2020, um grupo com cinco organizações governamentais, 16 empresas biofarmacêuticas e uma organização sem fins lucrativos formaram o Accelerating COVID-19 Therapeutic Interventions and Vaccines (ACTIV). Essa parceria possui quatro frentes de trabalho com o intuito de acelerar o desenvolvimento de tecnologia ao combate do novo coronavírus (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2020):

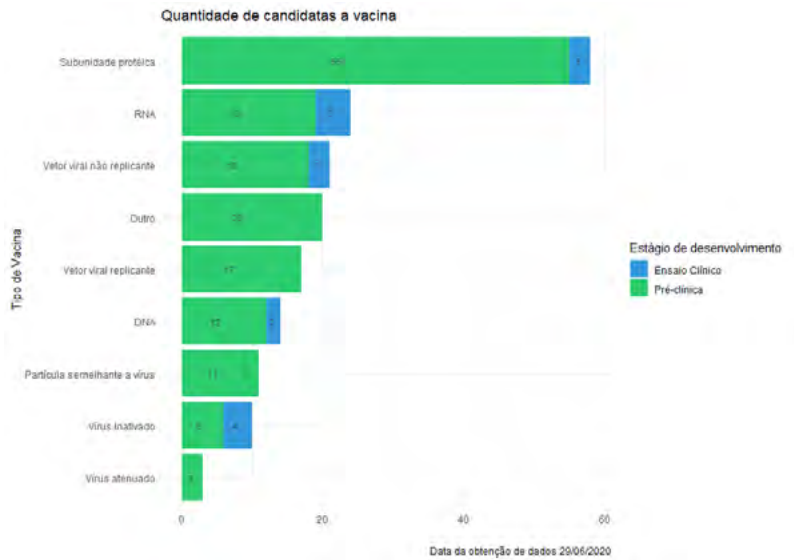
1. Pré-clínico: facilitar o acesso a modelos animais;
2. Tratamento: priorizar e testar potenciais alvos terapêuticos, além de desenvolver um protocolo de ensaio clínico padronizado;
3. Ensaio clínico: desenvolver instrumentos de pesquisa; desenvolver banco de dados de redes de ensaio clínico;
4. Vacinas: acelerar a aprovação de potenciais vacinas; providenciar evidências para as questões de segurança.

Além da velocidade para a produção da vacina, também é necessário que seja assegurada uma distribuição em massa. A Coalizão Para Inovação em Preparação para Epidemias (CEPI) estimou que o custo somente para o desenvolvimento de ensaios clínicos de até três vacinas nos próximos 18 meses será de 2 bilhões de dólares, e, no dia 24 de abril de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou o Access to COVID-19 Tools Accelerator (ACT), iniciativa que pretende arrecadar 8 bilhões de dólares. O objetivo do ACT é acelerar o desenvolvimento de tecnologias e conhecimento para o combate da COVID-19 e, conjuntamente, montar

uma rede que permita garantir o acesso global às tecnologias desenvolvidas. (CEPI, 2020)

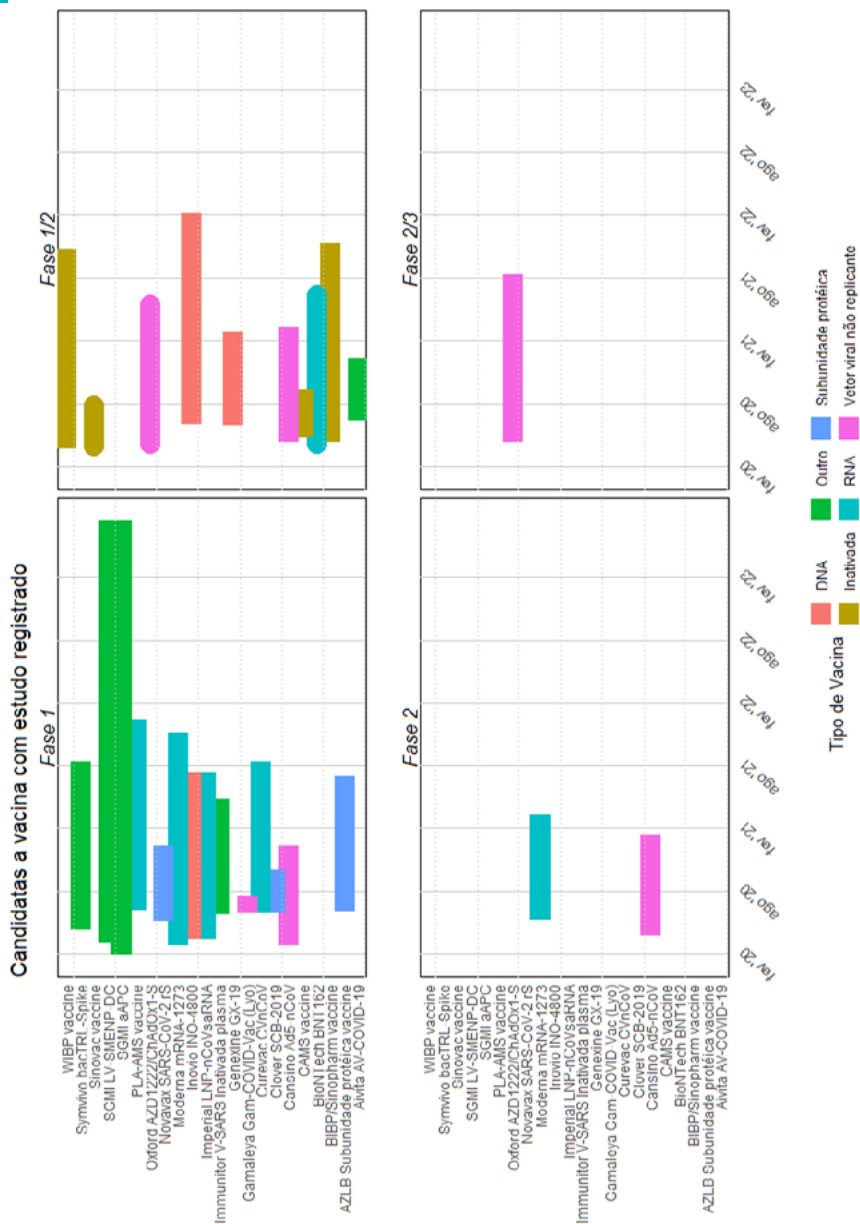
No dia 29 de junho de 2020, existiam 178 candidatas a vacina contra o SARS-CoV-2, de nove metodologias diferentes, com 17 delas no estágio clínico de pesquisa, sendo partícula semelhante a vírus a metodologia com maior número de candidatas em fase clínica de pesquisa (Figura 4). (MILKEN INSTITUTE, 2020)

Figura 4 – Número de candidatas à vacina estratificado pela metodologia utilizada e estágio de desenvolvimento



Fonte: elaborada pelos autores.

Figura 5 – Linha do tempo estimada dos estudos mais avançados nas fases clínicas das possíveis vacinas ao SARS-CoV-2



Data da obtenção dos dados 29/06/2020

Fonte: elaborada pelos autores.

No dia 29 de junho de 2020, 22 estudos com candidatas a vacina possuíam registro de ensaio clínico no ClinicalTrials.gov ou no Chinese Clinical Trial Registry, e a linha do tempo dos ensaios pode ser vista na Figura 5. O país com maior número de ensaios clínicos registrados é a China (11), seguida dos Estados Unidos (5) e Canadá (3). (COVID-19..., 2020)

No dia 18 de maio de 2020, a empresa Moderna – vacina baseada em RNA – divulgou os resultados interinos do ensaio clínico de fase I, apenas 63 dias após seu início. O estudo foi realizado com 45 pacientes (15 por grupo) e avaliou três doses diferentes da vacina: 25µg, 100µg e 250µg. A empresa reportou que todas as dosagens foram capazes de induzir produção de níveis de anticorpos neutralizantes maiores ou iguais àqueles de pessoas recuperadas da doença: em até 15 dias após a primeira dose, ocorreu a soroconversão em todos os grupos. (MODERNA, 2020)

No dia 10 de junho de 2020, o consórcio responsável pela candidata ChAdOx1 publicou o resultado do estudo realizado em primatas não humanos, demonstrando que a vacina era eficaz em evitar o desenvolvimento de pneumonia pelo SARS-CoV-2. Contudo, mesmo com a redução da carga viral encontrada no grupo vacinado, a vacina não protegeu os macacos *Rhesus* de ficarem infectados. (VAN DOREMALEN et al., 2020)

A candidata à vacina da empresa CanSino (Ad5-nCoV) teve os resultados da fase I publicados no dia 22 de maio de 2020, 67 dias após seu início. O estudo foi conduzido com 108 pacientes divididos em três grupos com doses crescentes (5×10^{10} partículas virais em 0,5 mL; 1×10^{11} em 1,0 mL; $1,5 \times 10^{11}$ em 1,5 mL). Houve aumento de anticorpos neutralizantes no 14º dia, e o pico ocorreu no 28º dia pós-vacinação. Os anticorpos contra o domínio de ligação do receptor S1 do vírus tiveram aumento de quatro vezes em 97, 94, e 100% dos participantes – grupos de dose baixa, média e alta, respectivamente – no dia 28. Contudo, em relação

aos anticorpos neutralizantes ao SARS-CoV-2, no mesmo período, apenas 50% dos grupos de baixa e média doses e 75% do grupo de alta dose apresentaram aumento de, ao menos, quatro vezes o valor basal. Na análise realizada, considerando o nível de anticorpo neutralizante contra o vetor utilizado na vacina (adenovírus), apenas 25%, 37% e 63% dos participantes dos grupos de baixa, média e alta dose desenvolveram títulos elevados de anticorpos neutralizantes. (ZHU et al., 2020)

A necessidade de desenvolver uma vacina rapidamente para reduzir o impacto social e econômico causado pela pandemia levou a uma reestruturação das etapas usuais de teste de uma candidata à vacina. Usualmente, os dados de cada etapa são analisados apenas ao final de cada estudo: isto é, para progredir da fase I para fase II, a primeira é concluída e analisada. Porém, devido à necessidade de encurtar os prazos para o desenvolvimento de uma vacina, estão sendo usados dados interinos da primeira fase para corroborar o início do estudo de fase II. As empresas CanSino e Moderna utilizaram essa abordagem para obter os dados que permitissem o início do estudo de fase II.

Uma abordagem que tem sido cogitada para reduzir o tempo dos ensaios clínicos é deliberadamente expor os candidatos vacinados contra SARS-CoV-2 ao vírus. Como expoente máximo dessa estratégia, está a iniciativa 1 Day Sooner, que já possuía mais de 26 mil voluntários no dia 30 de maio de 2020. Apesar de já existirem normas da OMS desde 2016 sobre esse tipo de ensaio, ele é pouco utilizado: existiam apenas 724 resultados dessa metodologia no ClinicalTrials.gov em um universo de 340.804 estudos registrados no dia 30 de maio de 2020. (1 DAY SOONER, 2020; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2020)

No dia 6 de maio de 2020, a OMS divulgou nota informando os oito critérios que devem ser seguidos para conduzir um estudo de desafio (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016):

1. Justificativa científica: deve existir forte evidência para conduzir o estudo;
2. Avaliação dos riscos e benefícios: os potenciais benefícios devem superar os riscos;
3. Consentimento e engajamento: o processo do estudo deve ser informado claramente para o público, *experts* e políticos;
4. Coordenação: pesquisadores, políticos, financiadores e agências reguladoras devem estar bem coordenadas entre si;
5. Seleção de sítio: o estudo deve ser conduzido em locais que possam fornecer o maior padrão científico, ético e de suporte à saúde do participante;
6. Seleção do participante: devem ser escolhidos apenas participantes que apresentem características que limitem o risco de complicações;
7. Revisão por *expert*: um comitê externo deve revisar o estudo;
8. Consentimento informado: o participante deve ser informado de forma clara de todos os possíveis riscos e, após isso, deve ser solicitado o seu consentimento.

A grande vantagem defendida pelos grupos a favor dos estudos de desafio é acelerar o desenvolvimento da vacina. Porém, existem argumentos contrários em relação à segurança e fisiopatologia. Uma vez que a população desses estudos deve ser majoritariamente constituída de jovens, existe o viés de que o risco de morte e complicações nessa população é inferior que em faixas etárias maiores. Sendo assim, a eficácia em prevenir sintomas ou ausência de efeitos colaterais nessa população pode não refletir os mecanismos fisiopatológicos da doença em populações com comorbidades e mais idosas. (COREY et al., 2020)

Outra estratégia possível a ser usada para aceleração do processo de testes de uma vacina é o desenho de estudo adaptativo, que permite que um estudo em andamento sofra modificações em

suas características – randomização, tamanho amostral, esquema de administração, entre outras –, sem que sua validade seja prejudicada. Esse tipo de estratégia pode ser vantajosa, ao passo que torna o processo de teste de uma vacina, por exemplo, menos lento, de forma que possa beneficiar a população de maneira mais ágil, além de poupar custos e reduzir a população exposta aos efeitos colaterais inerentes a uma intervenção. Entretanto, há possíveis consequências danosas à qualidade dos resultados, como o aumento de erro do tipo I (falso-positivo), visto que testes repetidos para o mesmo desfecho aumentam a chance de resultados favoráveis à intervenção serem encontrados ao acaso. O uso desse método requer um bom planejamento prévio ao início do estudo, com critérios claros para uma possível interrupção e análise estatística adaptada às suas particularidades. (FREGNI; ILLIGEN, 2018) Um ensaio clínico pode ser interrompido pela comprovação da eficácia ou da ineficácia da intervenção, a partir de uma análise dos resultados planejada para ocorrer em determinado ponto do estudo (análise interina). Esse tipo de análise sempre deve ocorrer para avaliar a segurança da intervenção, independentemente de o estudo ser adaptativo ou não.

Iniciativas de vacina no Brasil

Na lista divulgada pela OMS, duas vacinas contra COVID-19 estão em desenvolvimento no país, lideradas por grupos brasileiros, ambas em fase pré-clínica:

- Vacina com vetor viral replicante que utiliza o vírus atenuado da influenza, expressando a porção antigênica da proteína da espícula do SARS-CoV-2, liderada pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e pelo Instituto Butantan;

- Vacina que usa a metodologia de VLP com peptídeos do SARS-CoV-2, desenvolvida pela Universidade de São Paulo (USP).

Importante ressaltar que ambas as propostas são originárias de instituições públicas e lideradas por Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia (INCT): o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Vacinas (INCT-V) lidera o projeto da Fiocruz. Por sua vez, o Instituto Butantan e o Instituto de Investigação em Imunologia (iii-INCT) conduzem a proposta da USP. Esses estudos, que se iniciaram em março de 2020, refletem o potencial científico-tecnológico do país, apesar do escasso financiamento nos últimos anos. Após os investimentos realizados ao longo de vários anos, o sistema nacional de ciência, tecnologia e inovação está praticamente abandonado e sem recursos desde 2015.

Referências

1 DAY SOONER. *COVID-19 Human Challenge Trials*. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://1daysooner.org/#what-section>. Acesso em: 30 maio 2020.

AMANAT, F.; KRAMMER, F. Perspective SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity*, Cambridge, v. 52, n. 4, p. 583-89, 2020. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.03.007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761320301205>. Acesso em: 29 jun. 2020.

CEPI. *Landmark Global Collaboration Launched to Defeat COVID-19 Pandemic*. [S. l.], 26 Apr. 2020. Disponível em: cepi.net/news_cepi/landmark-global-collaboration-launched-to-defeat-covid-19-pandemic/. Acesso em: 25 maio 2020.

COHEN, J. Merck, One of Big Pharma's Biggest Players, Reveals Its COVID-19 Vaccine and Therapy Plans. *Science*, Washington, May 2020. DOI: 10.1126/science.abd0121. Disponível em: <https://www.sciencemag.org/news/2020/05/merck-one-big-pharma-s-biggest-players-reveals-its-covid-19-vaccine-and-therapy-plans>. Acesso em: 27 maio 2020.

COREY, L. *et al.* A Strategic Approach to COVID-19 Vaccine R&D. *Science*, Washington, v. 368, n. 6494, p. 948-950, 2020. DOI: 10.1126/science.abc5312. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/368/6494/948>. Acesso em: 29 jun. 2020.

COVID-19 vaccine development pipeline. [S. l.], July 2020. Disponível em: vac-lshmt.shinyapps.io/ncov_vaccine_landscape. Acesso em: 25 maio 2020.

CROMMELIN, D. J. A.; SINDELAR, R. D.; MEIBOHM, B. (ed.). *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications*. [S. l.]: Springer, 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-00710-2. .

DOESSCHATE, T. T. *et al.* Two Randomized Controlled Trials of Bacillus Calmette-Guérin Vaccination to Reduce Absenteeism among Health Care Workers and Hospital Admission by Elderly Persons during the COVID-19 Pandemic: A Structured Summary of the Study Protocols for Two Randomised Controlled Trials. *Trials*, London, v. 21, n. 481, 2020. DOI: 10.1186/s13063-020-04389-w. Disponível em: <https://trialsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13063-020-04389-w>. Acesso em: 29 jun. 2020.

ESCOBAR, L. E.; MOLINA-CRUZ, A.; BARILLAS-MURY, C. BCG vaccine protection from severe coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 117, n. 30, p. 17720-17726, 2020. DOI: doi.org/10.1073/pnas.2008410117. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/117/30/17720>. Acesso em 29 jun. 2020.

FOURATI, S. *et al.* Pre-Vaccination Inflammation and B-Cell Signalling Predict Age-Related Hyporesponse to Hepatitis B Vaccination. *Nature Communications*, London, v. 7, n. 1, 2016. DOI: 10.1038/ncomms10369. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncomms10369>. Acesso em: 29 jun. 2020.

FRANKLIN, R. *et al.* Homologous Protein Domains in SARS-CoV-2 and Measles, Mumps and Rubella Viruses: Preliminary Evidence That MMR Vaccine Might Provide Protection against COVID-19. *MedRxiv*, [s. l.], 2020. DOI: 10.1101/2020.04.10.20053207. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.10.20053207v1>. Acesso em: 29 jun. 2020.

FREGNI, F.; ILLIGENS, B. M. W. (ed.). *Critical Thinking in Clinical Research: Applied Theory and Practice Using Case Studies*. New York: Oxford University Press, 2018.

KE, R. *et al.* Fast Spread of COVID-19 in Europe and the US Suggests the Necessity of Early, Strong and Comprehensive Interventions. *MedRxiv*, [s. l.], 2020. DOI: 10.1101/2020.04.04.20050427. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.04.20050427v2>. Acesso em: 29 jun. 2020.

KIM, H. W. *et al.* Respiratory Syncytial Virus Disease In Infants Despite Prior Administration Of Antigenic Inactivated Vaccine¹². *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 89, n. 4, p. 422-434, 1969. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a120955. Disponível em: <https://academic.oup.com/aje/article-abstract/89/4/422/198849?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 29 jun. 2020.

LIU, W. J. *et al.* T-Cell Immunity of SARS-CoV: Implications for Vaccine Development against MERS-CoV. *Antiviral Research*, Amsterdam, v. 137, p. 82-92, 2017. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.11.006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166354216304016?via%3Dihub>. Acesso em: 29 jun. 2020.

LYNN, D. J.; PULENDRAN, B. The Potential of the Microbiota to Influence Vaccine Responses. *Journal of Leukocyte Biology*, New York, v. 103, n. 2, p. 225-231, 2017. DOI: 10.1189/jlb.5mr0617-216r. Disponível em: <https://jlb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1189/jlb.5MR0617-216R>. Acesso em: 29 jun. 2020.

MODERNA. *Moderna Announces Positive Interim Phase 1 Data for Its MRNA Vaccine (MRNA-1273) Against Novel Coronavirus*. 18 May 2020. Disponível em: investors.modernatx.com/news-releases/news-release-details/moderna-announces-positive-interim-phase-1-data-its-mrna-vaccine. Acesso em: 25 maio 2020.

MILKEN INSTITUTE. COVID-19 Treatment and Vaccine Tracker. [S. l.], July 2020. Disponível em: <https://covid-19tracker.milkeninstitute.org/>. Acesso em: 28 maio 2020.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. NIH to Launch Public-Private Partnership to Speed COVID-19 Vaccine and Treatment Options. Bethesda, 17 Apr. 2020. Disponível em: www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-launch-public-private-partnership-speed-covid-19-vaccine-treatment-options. Acesso em: 30 maio 2020.

OKBA, N.M. A. *et al.* Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 26, n. 7, p. 1478-1488, 2020. DOI: 10.3201/eid2607.200841. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/7/20-0841_article. Acesso em: 29 jun. 2020.

OU, X. *et al.* Characterization of Spike Glycoprotein of SARS-CoV-2 on Virus Entry and Its Immune Cross-Reactivity with SARS-CoV. *Nature Communications*, London, v. 11, n. 1, 2020. DOI: 10.1038/s41467-020-15562-9. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-15562-9>. Acesso em: 29 jun. 2020.

PROMPETCHARA, E.; KETLOY, C.; PALAGA, T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, Bangkok, v. 38, n. 1, p. 1-9, 2020. DOI: 10.12932/AP-200220-0772. Disponível em: <http://apjai-journal.org/wp-content/uploads/2020/03/1.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2020.

RANDOLPH, H. E.; BARREIRO, L. B. Herd Immunity: Understanding COVID-19. *Immunity*, Cambridge, v. 52, n. 5, p. 737-741, 2020. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761320301709>. Acesso em: 29 jun. 2020.

RITCHIE, H. *et al.* Coronavirus (COVID-19) Cases -Statistics and Research. *Our World in Data -Statistics and Research*, [Oxford], 2020. Disponível em: <https://ourworldindata.org/covid-cases>. Acesso em: 7 jul. 2020.

RUCKWARDT, T. J. *et al.* Immunological Lessons from Respiratory Syncytial Virus Vaccine Development. *Immunity*, Cambridge, v. 51, n. 3, p. 429-442, 2019. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.08.007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761319303334>. Acesso em: 29 jun. 2020.

SALK, H. M. *et al.* Taxa of the Nasal Microbiome Are Associated with Influenza-Specific IgA Response to Live Attenuated Influenza Vaccine. *Plos One*, San Francisco, v. 11, n. 9, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0162803. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0162803>. Acesso em: 29 jun. 2020.

SEKINE, T. *et al.* Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *BioRxiv*, [s. l.], 2020. DOI: 10.1101/2020.06.29.174888. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.06.29.174888v1>. Acesso em: 29 jun. 2020.

SRIDHAR, S. *et al.* Effect of Dengue Serostatus on Dengue Vaccine Safety and Efficacy. *New England Journal of Medicine*, Boston, v. 379, n. 4, p. 327-340, 2018. DOI: 10.1056/nejmoa1800820. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.06.29.174888v1>. Acesso em: 29 jun. 2020.

STRINGHINI, S. *et al.* Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. *The Lancet*, London, v. 396, n. 10247, p. 313-319, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31304-0. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620313040>. Acesso em: 29 jun. 2020.

TAKANO, T. *et al.* Antibody-Dependent Enhancement of Serotype II Feline Enteric Coronavirus Infection in Primary Feline Monocytes. *Archives of Virology*, New York, v. 162, n. 11, p. 3339-3345, 2017. DOI: 10.1007/s00705-017-3489-8. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-017-3489-8>. Acesso em: 29 jun. 2020.

TO, K. K.-W. *et al.* Temporal Profiles of Viral Load in Posterior Oropharyngeal Saliva Samples and Serum Antibody Responses during Infection by SARS-CoV-2: an Observational Cohort Study. *The Lancet Infectious Diseases*, New York, v. 20, n. 5, p. 565-574, 2020. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(20\)30196-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30196-1/fulltext). Acesso em: 29 jun. 2020.

VAN DOREMALEN, N. *et al.* A single dose of ChAdOx1 MERS provides protective immunity in rhesus macaques. *Science Advances*, Washington, v. 6, n. 24, 2020. Disponível em: <https://advances.sciencemag.org/content/6/24/eaba8399>. Acesso em: 15 jul. 2020.

WINARSKI, K. L. *et al.* Antibody-Dependent Enhancement of Influenza Disease Promoted by Increase in Hemagglutinin Stem Flexibility and Virus Fusion Kinetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 116, n. 30, 2019, p. 15194-15199. DOI: 10.1073/pnas.1821317116. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/116/30/15194>. Acesso em: 29 jun. 2020.

WRAPP, D. *et al.* Cryo-EM Structure of the 2019-NCoV Spike in the Prefusion Conformation. *Science*, New York, v. 367, n. 6483, p. 1260-1263, 2020. DOI: 10.1126/science.abb2507. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/367/6483/1260>. Acesso em: 29 jun. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. *Human Challenge Trials: Scientific and regulatory considerations*. Geneva: WHO, 2016. Disponível em: https://www.who.int/biologicals/BS2288_Human_Challenge_Trials_clean.pdf. Acesso em: 30 maio 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. *Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines*. Geneva, July 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>. Acesso em: 28 maio 2020.

WU, L.-P. *et al.* Duration of Antibody Responses after Severe Acute Respiratory Syndrome. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 13, n. 10, p. 1562-1564, 2007. DOI: 10.3201/eid1310.070576. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/13/10/07-0576_article. Acesso em: 29 jun. 2020.

XU, X. *et al.* Seroprevalence of immunoglobulin M and G antibodies against SARS-CoV-2 in China. *Nature Medicine*, New York, 2020. DOI: 10.1038/s41591-020-0949-6. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0949-6>. Acesso em: 29 jun. 2020.

ZHU, F.-C. *et al.* Safety, Tolerability, and Immunogenicity of a Recombinant Adenovirus Type-5 Vected COVID-19 Vaccine: a Dose-Escalation, Open-Label, Non-Randomised, First-in-Human Trial. *The Lancet*, London, v. 395, n. 10240, p. 1845-1854, 2020. DOI: 10.1016/s0140-6736(20)31208-3. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620312083>. Acesso em: 29 jun. 2020.