

VACINAS: história, tecnologia e desafios para terapia contra o SARS-CoV-2

Polyana Silva Alves¹; Larissa Gabrielle Silva Ferreira Ono, Natalia Lourenço de Freitas, Geovana Vieira da Silva, Christiane Pienna Soares

¹CEPAM - Centro de Pesquisa Avançada em Medicina da UNILAGO, Faculdade de Medicina - UNILAGO, União das Faculdades dos Grandes Lagos, SJRP, SP, ²Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara, SP,

[autor correspondente. CPS: soarescp@fcar.unesp.br]

RESUMO

Os coronavírus (CoVs) são um grupo de vírus envelopados caracterizados pela presença de projeções na forma de espículas ("spikes") que conferem uma aparência de coroa à superfície viral, da qual advém sua denominação. Um novo coronavírus, o SARS-CoV-2, foi identificado em dezembro de 2019 e rapidamente se espalhou pelo mundo promovendo a mais grave pandemia de nossa história recente. O alto poder de transmissão e a elevada letalidade tornam a infecção causada por este agente, a COVID-19, um problema de saúde pública gravíssimo, sendo urgente a geração de conhecimento que permita a produção de terapias específicas ou desenvolvimento de vacinas. A entrada dos coronavírus nas células hospedeiras é mediada por uma glicoproteína transmembrana, a spike (S), que usam os receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2) como receptor primário e infectam primariamente células epiteliais brônquicas. Até o momento existem vários estudos procurando terapia para o SARS-CoV-2, o vírus causador da maior e mais letal pandemia vista no mundo nesse século. Dentre as buscas por novos fármacos ou o reposicionamento de fármacos, têm-se procurado uma vacina capaz de promover imunidade com eficácia e segurança. Dentre as centenas de estudos estão sendo desenvolvidos para o desenvolvimento de uma vacina para SARS-CoV-2, 21 são vacinas candidatas para estudo em diferentes fases clínicas e 139 candidatos em avaliação pré-clínica. A promessa é uma ou várias vacinas que deverão ser testadas no Brasil entre 2020 e 2021. Vários candidatos à vacina podem ser relevantes, considerando que pouco se sabe da imunidade que essas vacinas poderão suscitar entre os indivíduos e se essa imunidade será duradoura ou haverá necessidade de doses de reforço ou combinação de diferentes tipos de vacina. Para o mundo, descortina-se a esperança na luta contra esse vírus de grande transmissibilidade e letalidade.

Palavras-chave: vacina, COVID-19, SARS-CoV-2, história, tecnologia, desafios

ABSTRACT

Coronaviruses (CoVs) are a group of enveloped viruses characterized by the presence of projections in the form of spikes ("spikes") which give its the appearance of a crown to the viral surface, from which its name derives. A new coronavirus,

SARS-CoV-2, was identified in December 2019 and quickly spread across the world, promoting the most serious pandemic in our recent history. The high transmission power and the high lethality make the infection caused by this agent, COVID-19, a very serious public health problem, with the generation of knowledge which allows the production of specific therapies or the development of vaccines being urgent. The entry of coronaviruses into host cells is mediated by a transmembrane glycoprotein, the spike (S), which use the receptors of the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as the primary receptor and primarily infect bronchial epithelial cells. To date, there have been several studies looking for therapy for SARS-CoV-2, the virus that caused the largest and most lethal pandemic seen in the world in this century. Among the searches for new drugs or the repositioning of drugs, a vaccine capable of promoting immunity with efficacy and safety has been sought. Among the hundreds of studies being developed for the vaccine production against SARS-CoV-2, 21 are vaccine candidates for study in different clinical phases and 139 candidates in preclinical evaluation. The promise is one or more vaccines, it will be tested in Brazil between 2020 and 2021. Several candidates for the vaccine may be relevant, considering a less knowledge about the immunity that these vaccines may raise among individuals and whether that immunity will be lasting or there will be a need booster doses or combination of different types of vaccine. For the world, hope is emerging in the fight against this highly transmissible and lethal virus.

Key words: vaccine, COVID-19, SARS-CoV-2

INTRODUÇÃO

• HISTÓRIA DE VACINAÇÃO - PASSADO, PRESENTE E FUTURO

As vacinas são há muito elogiadas como uma das mais importantes conquistas em saúde pública do passado século. Um dos capítulos mais brilhantes da história da ciência é o impacto das vacinas no ser humano longevidade e saúde. Mais de 300 anos se passaram desde que a primeira vacina foi descoberta. O conceito de indução artificial de imunidade é dito ter tido suas origens na Índia e no Extremo Oriente. Os chineses são geralmente creditados com o desenvolvimento da “variolação” (proteção contra a varíola) há mais de mil anos, com base nessa ideia, segundo a qual uma pequena quantidade de secreções secas de uma crosta de varíola quando insuflada no nariz, poderia conferir imunidade ao indivíduo em a exposições consecutivas¹. Uma modificação desta mesma medida na Índia levou à prática, denominada escarificação, método de arranhar o agente na pele para alcançar imunidade. Esse método de prevenção se espalhou para o

oeste Europa no século XVII, embora os resultados tenham sido mistos e as complicações significativas que se seguiam frequentemente².

A chamada “variolação”, quando o a doença da varíola, transmitindo-a deliberadamente de uma pessoa infectada para uma saudável. Observou-se, que as pessoas que sobreviveram à varíola não contraíram novamente. Assim, o conceito da “variolação” era provocar um ataque leve de varíola, a fim de evitar um ataque grave e, eventualmente, com risco de vida³. Dessa forma, as pessoas que contraíram varíola raramente desenvolviam um segundo caso sugeriu o conceito de imunidade a doenças.

Em 1796, Edward Jenner implementou a prática da “variolação”, através da observação de leiteiras que previamente haviam contraído varíola de vaca, raramente contraíam varíola humana. Ele então iniciou a primeira imunização inoculando o vírus de varíola bovina em um menino de 8 anos com varíola. A “variolação” reduziu o número de mortes devido a varíola consideravelmente: a taxa de letalidade caiu de 20-30% após um ataque de varíola “natural” para 0,5-2% após

variolação⁴. Assim, Edward Jenner foi o grande responsável por introdução da vacinação à comunidade médica e a vacinação generalizada começou em o início de 1800.

A partir desses resultados, a vacinação tornou-se obrigatória na Grã-Bretanha entre 1840 e 1853. Entretanto, ligas anti-vacinação quase imediatamente desafiaram a lei alegando violação da liberdade civil⁴. Os métodos iniciais implantados por Jenner atraiu forte oposição dos pais, que desaprovavam a necessidade de ferir seu filho pelo protocolo de escarificação da pele. Ainda, o clero passou a criticar o uso de uma fonte animal como um ato "Não cristão".

Décadas depois, quando vacinas mais seguras foram disponibilizadas, o parlamento inglês instituiu a Lei de Vacinação de 1853, ordenando a vacinação obrigatória de bebês e introduzindo sanções legais contra pais que não o vacinavam seus filhos. Muitos protestos efervesceram com base na "violação de liberdade e escolha pessoais", incluindo uma manifestação em Leicester em 1885⁵. Apesar da controvérsia pública que circulou entre a população, o número de pessoas submetidas a variolação cresceu não apenas na Inglaterra, mas também em outros países da Europa e até na América³.

Mesmo com todos os problemas com a não aceitação do processo de outras vacinas foram desenvolvidas anteriores ao século 20 (6). No final do século 20, uma nova onda de propagandas de anti-vacinação aumentou na mídia com argumentos que atacavam a imunização infantil, independentemente do conhecimento médico estabelecido. Os grupos denominados "anti- vacinadores" possuíam crenças profundamente arraigadas, muitas vezes de natureza espiritual ou espiritual, natureza filosófica e essas crenças permaneceram notavelmente constante durante a maior parte de dois séculos. O movimento abrange uma ampla gama de indivíduos, que expressam teorias da conspiração, mesmo sendo educados e bem informados sobre os cuidados com a saúde, frequentemente têm uma lógica

complexa para suas crenças, relacionadas a uma "mistura de visões de mundo sobre o ambiente, cura, holismo e uma leitura crítica à literatura científica e alternativa"⁵.

A hesitação vacinal é um termo cunhado na tentativa de despolarizar a retórica anti-vacinação e é definida por Organização Mundial da Saúde mais simplesmente como "um atraso na aceitação ou recusa de vacinas, apesar de disponibilidade de serviços de vacinação." Essa hesitação à vacinação deve ser entendida não como preto e branco, mas como um espectro de crenças e preocupações dos pais (Figura 1).

Apesar de que os movimentos anti-vacinação terem atravessado os séculos, o programa de pré-qualificação de vacinas foi estabelecido em 1987, concebido como um serviço prestado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) à Divisão de Abastecimento de sua agência irmã, o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF). Seu principal objetivo foi garantir que as vacinas compradas pelo UNICEF e outras agências de compras da ONU seria consistentemente seguro e eficaz sob condições de uso em programas nacionais de imunização. Tudo começou como um projeto modesto, com base no teste de lotes de vacinas; revisão do programa de resumo do protocolo do lote e na inspeção das instalações de fabricação⁸.

Como a demanda aumentou e as necessidades evoluíram, o procedimento foi revisado para fortalecer sua capacidade de avaliar a qualidade, segurança e eficácia do vacinas candidatas para compra através das agências da ONU. A revisão dos procedimentos foi desencadeada por necessidade de mudanças e foi introduzido na maioria dos casos com base em recomendações de grupos de especialistas (o comitê ad hoc de pré-qualificação de vacinas). Todas as revisões foram endossadas ou anotadas pelo Comitê de Peritos em Normalização Biológica da OMS (EBCBS) antes da sua implementação e publicação como parte do Relatório Técnico da OMS Série de Relatórios (TRS) ou como documento do Departamento de Vacina⁸.



FIGURA 1. Espectro de aceitação de vacina. (Adaptado de (7)).

Estratégias de vacinação podem ser efetivamente utilizadas para reduzir a gravidade de infecção viral, controle de sua transmissão, por diminuição da carga viral, aumento de anticorpos específicos e prevenir infecções futuras. As vacinas são geralmente direcionadas para induzir as duas vias do sistema imunológico de resposta adaptativa, produzindo anticorpo neutralizante que impede a adesão às células hospedeiras e ativar as células T killer do corpo que reconhecem e matam células infectadas. Os candidatos à vacina são escolhidos dentre as várias abordagens disponíveis de acordo com o nível necessário de proteção. O método mais simples envolve a inoculação de um vírus contido na vacina será após sua inativação química, irradiação gama ou calor. Essas são denominadas vacinas atenuadas⁹.

Os avanços das vacinas que envolvem conhecimentos em imunologia, biologia molecular e saúde pública que atravessaram os séculos, não importando a hesitação e as

propagandas anti-vacinação, e houve um desenvolvimento extraordinário de diferentes tipos de vacinas capazes de proteger a população (Tabela 1). Tabela 1 – Panorama do desenvolvimento de vacinas humanas (Adaptada de (6)). Diante da epidemia pelo COVID-19, há um enorme esforço no desenvolvimento rápido de vacinas capazes de combater o coronavírus SARS-CoV-2. Nenhuma vacina foi atualmente licenciada para os diferentes coronavírus já identificados - SARS-CoV-1, MERS-CoV, e vírus da gripe. As razões econômicas são a maior causa da ausência de vacina, aliada ao fato que a produção de vacinas para os coronavírus são sempre um desafio, considerando que a resposta imunológica natural à essas infecções podem ter período curto. Ainda, alguns estudos de triagem de vacinas para o SARS-CoV-1 resultaram em preocupações com sua segurança e, portanto, o desenvolvimento da vacina para o coronavírus SARS-CoV-2 pode não ser simples de realizar¹⁰.

Tabela 1 – Panorama do desenvolvimento de vacinas humanas (Adaptada de (6)).

Vivos Atenuados	Organismo Inteiro Morto	Proteínas/Polissacarídeos Purificados	Produção
Século 18			
Variola (1798)			
Século 19			
Raiva (1885)	Tifoide (1896) Cólera (1896) Praga (1897)		
Início do século 20,			
Tuberculose (bacilo Calmette-Guérin) (1927) Febre amarela (1935)	Coqueluche (1926) Gripe (1936) Rickettsia (1938)	Toxóide da difteria (1923) Toxóide tetânico (1926)	
Século 20, Segunda Metade			
Pólio (oral) (1963) Sarampo (1963) Caxumba (1967) Rubéola (1969) Adenovírus (1980) Febre tifoide (Salmonella TY21a) (1989) Varicela (1995) Remontantes do rotavírus (1999) Cólera (atenuada) (1994) Gripe adaptada ao frio (1999)	Pólio (injetado) (1955) Raiva (cultura de células) (1980) Encefalite japonesa (cérebro de camundongo)(1992) Encefalite transmitida por carrapatos (1981) Hepatite A (1996) Cólera (WC-rBS) (1991) Conjugado meningocócico (grupo C) (1999)	Proteínas secretadas por antraz (1970) Polissacarídeo de Meningococos (1974) Polissacarídeo de Pneumococos (1977) Polissacarídeo do Haemophilus influenza tipo B (1985) Conjugado de H.influenzae tipo B(1987) Polissacarídeo Tifóide (Vi) (1994) Coqueluche acelular (1996) Hepatite B (derivada de plasma) (1981)	Antígeno de superfície da hepatite B recombinante (1986) Lyme OspA (1998) Cólera (toxina recombinante B) (1993)
Século 21			
Rotavírus (atenuado e novo virion) (2006) Zoster (2006)	Encefalite Japonesa (2009) (Celular Vero) Cólera (apenas WC) (2009)	Conjugados pneumocócicos * (heptavalente) (2000) Conjugados meningocócicos * (quadrivalente) (2005) Conjugados pneumocócicos * (13-valente) (2010)	Papilomavírus humano recombinante (quadrivalente) (2006) Papilomavírus humano recombinante (bivalente) (2009) Proteínas meningocócicas do grupo B (2013)

* Polissacarídeo capsular conjugado com proteínas transportadoras

Segundo (11), a vacina possui várias etapas (Figura 2) para ser levada a comercialização, cujo desenvolvimento depende de fases de

pré-licenciamento (chegando até a fase III) e pós-licenciamento (fase IV para verificar população, farmacovigilância e o estudo de eficácia e segurança ainda na fase IV).

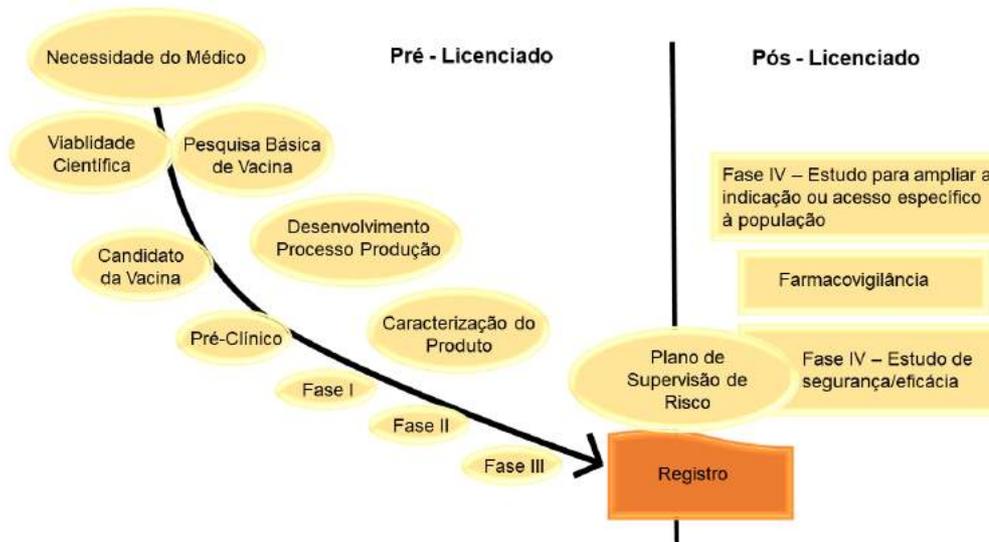


FIGURA 2 . Fluxograma do desenvolvimento de uma vacina (Adaptado de (11)).

Como observado na Figura 2, o desenvolvimento de uma vacina é um processo de vários passos, onde cada fase atende a um protocolo rígido para garantir a imunidade de população e a segurança (12). Desde as etapas de desenvolvimento até sua licença para uso por órgãos reguladores pode demandar muitos anos ou as vezes décadas. As investigações visam entre 60 a 70% de efetividade na prevenção, pois, assim como amplamente difundido, as mudanças comportamentais mostram-se bem-sucedidos¹³.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE VACINAS

- **Avanços e Novas tecnologias de Vacinas, Tecnologias recentes para produção de vacinas em larga-escala**

São notáveis atualmente os esforços para se desenvolver vacinas que possibilitem uma melhor resposta imunológica combinada a uma menor taxa de reações adversas. Dentre elas pode-se destacar as produzidas com tecnologias tradicionais, como a utilização de organismos atenuados ou inativados, e as produzidas com tecnologias mais novas, como subunidades de microrganismos, VLPs, peptídeos, vacinas de DNA e RNA¹⁴.

Tais tecnologias clássicas envolvem a utilização de ovos durante a produção e são manuseadas diversas vezes por seres humanos, como é o caso da vacina contra a gripe. Entretanto, a adoção desse procedimento pode ser a causa de reações adversas em pacientes que apresentam histórico de alergia a ovo, pode levar a erros na produção por falha humana e apresenta restrições devidas à limitação na quantidade de ovos disponíveis.

Já as tecnologias mais recentes permitem a produção de vacinas utilizando diretamente células infectadas com o vírus de interesse. Nesse procedimento, o vírus se replica até ocasionar a lise celular e possibilita a recuperação dos microrganismos através de etapas de centrifugação e filtração. Posteriormente, o vírus é inativado através de tratamentos químicos específicos, como por exemplo utilizando formaldeído^{15,16}. Esse tipo de tecnologia permite um maior controle sobre os processos fermentativos desenvolvidos em biorreatores, possibilitando dessa maneira aumentar a qualidade do processo, escalabilidade, velocidade da produção e diminuindo o custo de instalação inicial dos equipamentos necessários. Contudo, por serem biorreatores de usos únicos e específicos, apresentam um elevado custo de manutenção, de automação, e podem apresentar problemas mecânicos¹⁷.

Além de tais estratégias, é possível citar outros métodos que buscam produzir vacinas mais baratas, com escalabilidade, flexibilidade, baixa complexidade, termoestáveis e que não necessitam de adjuvante ou que funcionem por si só como um adjuvante, como, por exemplo, as vacinas desenvolvidas por VLPs, vacinas de RNA e vacinas produzidas a partir de proteínas recombinantes cultivadas em leveduras^{15,16}.

As novas tecnologias descritas apresentam pontos em comum que garantem o sucesso de seu processo, como a estabilidade e estrutura do antígeno, o que garante a eficiência da vacina, um maior prazo de validade do produto acabado e a diminuição de efeitos colaterais como alergias¹⁶. A seguir serão descritas algumas das tecnologias citadas.

• **Tecnologias recentes para produção de vacinas em larga-escala**

O uso de leveduras para a produção de vacinas e produtos destinados a humanos ocorre com o uso de maquinaria especializada capaz de realizar modificações

pós traducionais, como a glicosilação e modificações essenciais para o perfeito funcionamento de proteínas. Contudo, nem sempre tais modificações apresentam padrões exatamente iguais às realizadas pelas células humanas, por esse motivo, há a necessidade de estudar e entender melhor a biofábrica que será utilizada (18–20). As leveduras usualmente utilizadas como biofábrica são a *S. cerevisiae*, a *H. polymorpha* e a *P. pastoris*, que podem ser utilizadas em sua forma selvagem ou geneticamente modificadas^{19,20}.

Um ponto importante a se destacar e limitante ao processo utilizando leveduras é a lenta produção de produtos quando comparadas diretamente com outros microrganismos como, por exemplo, a bactéria *E. coli*, um organismo menos complexo e com capacidade de multiplicação de apenas 20 minutos²¹⁻²³, enquanto leveduras, como *P. pastoris* tem a capacidade de multiplicação de 2 a 3 horas.

O processo produtivo pode ser dividido em etapas, *upstream*, *mid-stream* e *downstream*, conforme ilustrado na imagem abaixo. Tal divisão abrange diferentes técnicas, na qual a *upstream* e a *mid-stream* envolvem os processos de cultivo celular e fermentação e a *downstream* envolve os processos de purificação e recuperação do produto, podendo empregar técnicas como filtrações e cromatografias.

VACINAS PARTÍCULAS COMO VÍRUS (VLPs)

Desde o desenvolvimento da primeira vacina, no século 18 por Edward Jenner, cientistas buscam mecanismos e técnicas cada vez mais sofisticadas e precisas a fim de minimizar reações adversas indesejadas, como foi o caso da febre aftosa. Nesse contexto, dentre várias tecnologias aplicadas, em 1986 surgiu a vacina contra hepatite B: primeira vacina comercial constituída de partículas virais que “imitam” os vírus causadores de doenças²⁴.

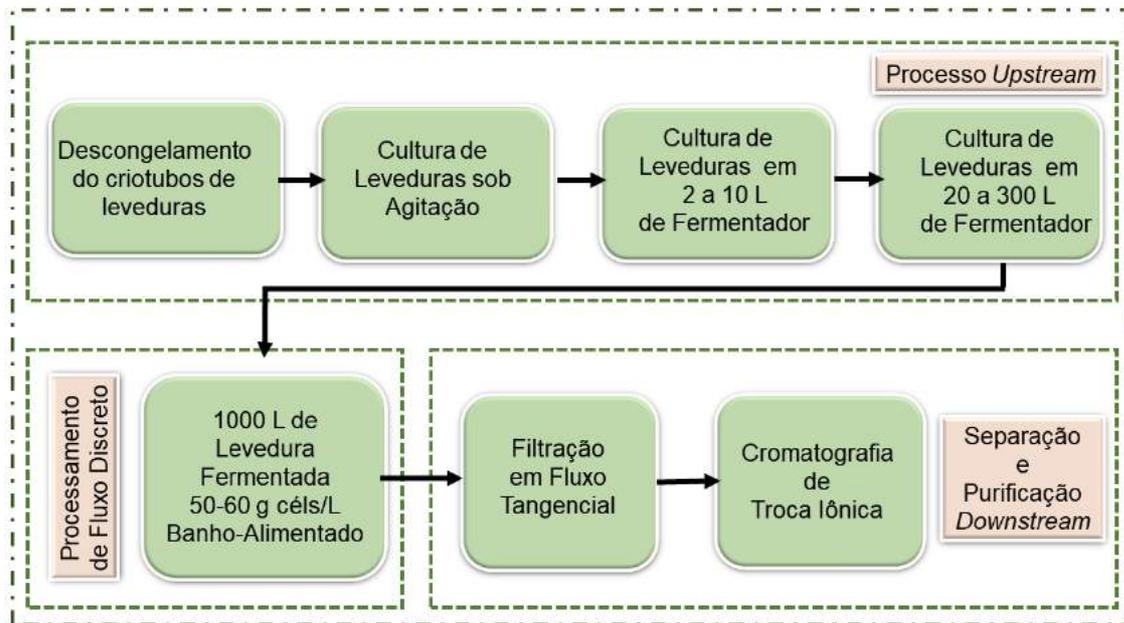


Figura 3: Etapas para produção de vacinas em leveduras. (Adaptado de (15).)

As vacinas partículas como vírus (*virus-like particles*, VLP) são constituídas por estruturas proteicas que simulam a conformação do vírus selvagem, porém essas estruturas não possuem o genoma viral que seria o agente infectante. Deste modo a vacina torna-se segura, capaz de desencadear a resposta imunológica pretendida sem acarretar o adoecimento do vacinado²⁴. Tais proteínas utilizadas podem mimetizar o capsídeo viral, como é o caso da vacina comercial contra HPV. Dessa maneira, desencadeiam forte resposta imunológica de células B, levando a produção de anticorpos específicos contra o antígeno e de linfócitos de memórias. Caso haja o contato do indivíduo imunizado com o vírus, os linfócitos B de memória são capazes de secretar anticorpos específicos que se ligam ao vírus, impedindo que infectem as células do hospedeiro e promovendo sua fagocitose por células fagocíticas responsáveis²⁵.

Um importante exemplo bem sucedido das VLPs é a vacina produzida contra o HPV, papilomavírus humano. O HPV apresenta

em seu genoma diversas proteínas que desempenham diferentes funções, sendo ligadas a replicação viral, a integração ao genoma do hospedeiro e a proteínas que formam o capsídeo viral, chamadas de L1 e L2. A primeira, mais abundante delas, representa um importante alvo vacinal (26,27). Na década de 1990 foi possível comprovar que a utilização de L1 como VLP induziu a produção de anticorpos neutralizantes, ocasionando a imunidade a longo prazo contra o HPV²⁸⁻³¹.

Atualmente existem vacinas comerciais constituídas de diferentes tipos de HPVs. Com tais diferenças, cada proteína L1 é produzida por leveduras em diferentes processos fermentativos, com meios de cultura específicos e processos de lise celular que permitem a recuperação dessas proteínas acumuladas no interior das células. Após a etapa de cultivo, lise celular e remoção dos debris celulares, se faz necessária a utilização de modernas técnicas de purificação como a cromatografia, a filtração e colocar fim à adição de adjuvante: componente essencial capaz de aumentar a

resposta imunológica do indivíduo, neste caso, utilizado o hidróxido de alumínio, para que a vacina possa ser comercializada^{25,32}.

Dentre os candidatos a estudos clínicos com vacina VLP para SRAS-CoV-2, há a vacina VLP derivada de planta, produzida pela Medicago Inc./ Université Laval, que se encontra em fase 1 (registro NCT04450004),

mas pacientes ainda não foram recrutados. A figura 4 demonstra esquematicamente que as VLPs contêm a proteína do SARS-CoV-2 sem material genético, que é o desenvolvimento por tecnologia de DNA recombinante.

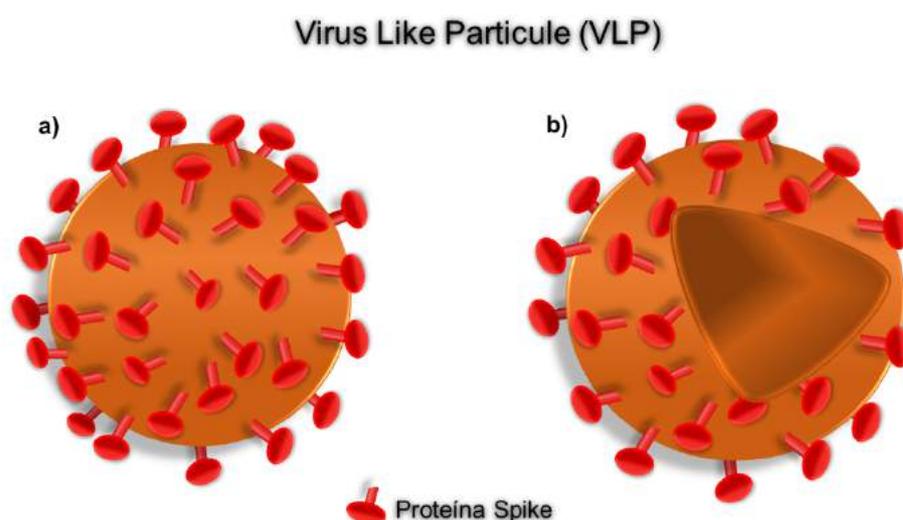


FIGURA 4 – Representação Esquemática das vacinas que são produzidas por VLPs a) Construção da VLP contendo as proteínas Spike; b) A VLP sem material genético do SARS-CoV-2 (Autoria própria).

• Vacinas DNA e RNA

Embora as vacinas tradicionais compreendam proteínas para os vírus atenuados, muita atenção recentemente dispensada às vacinas de DNA. Imunização com O DNA tem várias vantagens sobre a imunização com proteínas, incluindo a indução de respostas potentes de CTL em humanos e primatas não humanos. A robustez e a simplicidade DNA oferecem o potencial para melhorar a estabilidade da vacina e custos reduzidos para a produção de vacinas. Além disso, parados aos vírus atenuados como veículos de entrega do HIV genes, o DNA plasmidial oferece uma alternativa segura³³.

Por outro lado, as vacinas de RNA são atraentes, porque exibem características de vacinas de subunidade e atenuadas ao vivo vetores, incluindo produção flexível e indução de imunidade humoral e celular. Enquanto humano a prova de conceito para vacinas de RNA ainda está pendente, o campo nascente da terapêutica com RNA já atraiu fundos substanciais da indústria e do governo, além de investimentos recordes em empreendimentos privados capital³⁴. As vacinas de RNA replicação apresentam uma abordagem complementar e alternativa muito interessante aos vetores de mRNA não replicantes. Essa configuração alternativa utiliza elementos virais acessórios que levar à auto-amplificação do RNA mensageiro O

ponto forte dessa abordagem é a auto-amplificação do vetor in vivo, expressão proteica de alto nível e duradoura, facilmente viável com a tecnologia disponível. Um desafio persistente, no entanto, permanece no menor rendimento e especificidade da produção dessas moléculas muito maiores e sem dúvida na interferência de imunidade de vetor³⁵.

Para a produção de vacinas RNA, Para a síntese do vetor RNA, apenas informações sobre a sequência de ácido nucleico é necessária. Ainda, as vacinas de RNA são produzidas por um altamente processo padronizado com adaptações relativamente pequenas são responsáveis por variações no comprimento ou composição da sequência. O RNA representa uma substância medicamentosa relativamente estável, pois a exposição prolongada à *RNase* é evitada. O RNA pode ser liofilizado armazenamento prolongado à temperatura ambiente, facilita muito distribuição e armazenamento³⁴.

Até o momento (11 de julho de 2020), para o SARS-CoV-2, dos 21 candidatos a vacina em estudo clínico, duas são de vetores de RNA não replicante, duas de RNA e quatro de vacinas de DNA. Entre os 139 candidatos de vacina em estágio pré-clínico, existem diversos desenvolvimentos desses tipos de vacina que necessitam de avanço para fase clínica³⁶.

• Resposta Imunológica às Vacinas

A maioria das vacinas disponíveis atualmente se baseia na indução da imunidade humoral do paciente, sendo os anticorpos os responsáveis pela neutralização e eliminação dos microrganismos. Para que tenham sucesso e cumpram seu papel de prevenção duradoura, as vacinas devem estimular os plasmócitos de vida longa a produzir anticorpos específicos que reconheçam exatamente o alvo desejado e que gerem células B de memória, assim garantindo não somente proteção momentânea, mas ao longo dos anos²⁵..

A indução da resposta imunológica pode ser afetada por vários fatores (Figura 2), como por exemplo, a idade, hábitos de vida do paciente, a forma de administração da vacina, entre outros como exemplificados na figura abaixo³⁷.

As diferentes estratégias e formulações também influenciam em como o sistema imunológico do paciente irá reconhecer o antígeno apresentado e criar defesas contra os microrganismos invasores. A seguir, detalha-se as vacinas de DNA para exemplificar um dos mecanismos que o sistema imunológico possui²⁵.

As vacinas de DNA surgiram da proposta de inoculação de um plasmídeo engenheirado contendo genes de interesse. Tais plasmídeos são entregues, de diferentes maneiras a células apresentadoras de antígeno, APCs, que passam a produzir as proteínas desejadas e a apresentá-las através de MHC classe I. Com isso, os linfócitos TCD 8 são ativados e levam as células infectadas a morte.

Por outro lado, as vacinas de DNA também são capazes de induzir a resposta imunológica humoral, mediada por anticorpos, visto que o plasmídeo poderia ser também capturado por células não APCs. Assim, tais células produziram a proteína de interesse e seriam encaminhadas e englobadas pelas APCs. Como as proteínas viriam de uma via extracelular, a apresentação de seus antígenos seria feita pelas APCs através de MHC classe II, ativando assim linfócitos TCD 4, e posteriormente levando a ativação de células B, responsáveis pela produção de anticorpos capazes de neutralizar possíveis microrganismos que o paciente venha a ser submetido^{25,38} (Figura 6).



FIGURA 5. Fatores que influenciam a resposta imunológica a vacinação. (Adaptado de (37)).

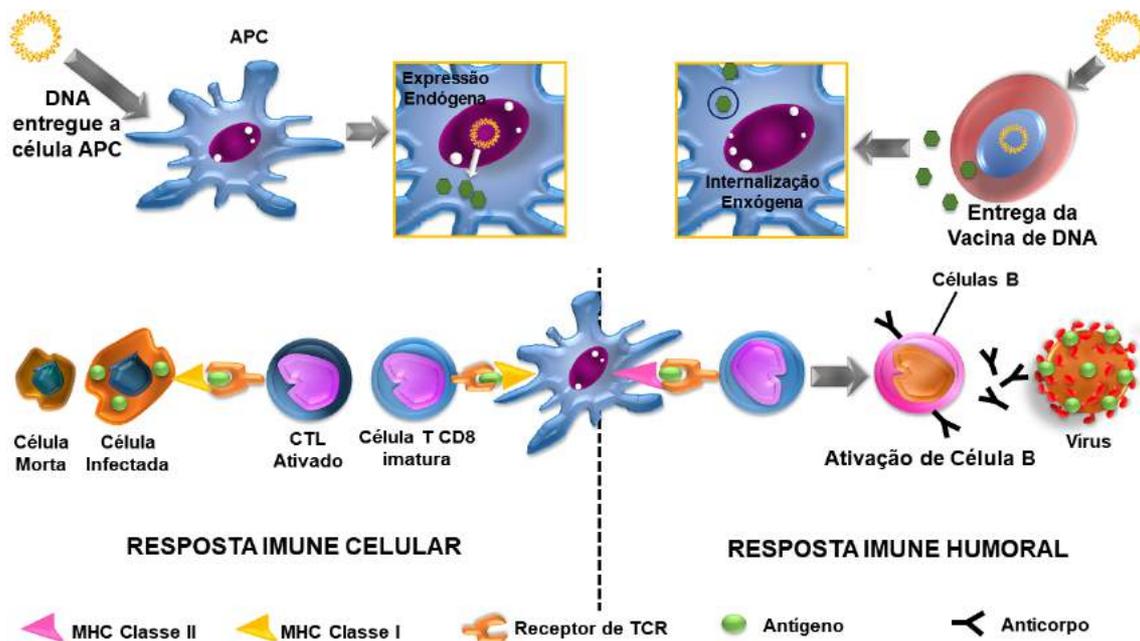


FIGURA 6. Representação das diferentes respostas imunológicas causadas por vacinas de DNA. APC (Células Apresentadoras de Antígeno); CLT (Células T Citotóxicas); MHC (Complexo de Histocompatibilidade); TCR (Célula T regulatórias) (Adaptado de (38)).

LIÇÕES APRENDIDAS SOBRE VACINAS PARA SARS E MERS

Em novembro de 2002, na cidade de Foshan na China, o primeiro caso conhecido de síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) foi relatado, e levou a um total de 8.096 casos, incluindo 774 mortes em 27 países, em julho de 2003 nenhuma infecção foi detectada e a pandemia da SARS foi declarada encerrada (39). Em julho de 2012, na Arábia Saudita um homem morreu com pneumonia aguda, em seu escarro um novo coronavírus, coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) foi isolado⁴⁰.

Diante desse cenário foi crescente a pesquisa em desenvolvimentos de vacinas para esses dois novos vírus, com uma vasta gama de candidatos, abrangendo subunidades, vírus inativados por inteiro, DNA, vacinas vetorizadas, anticorpos monoclonais, entre outros que estão em desenvolvimento⁴¹.

Vacinas MERS-CoV S foram desenvolvidas com subunidades de proteínas do vírus, vacinas utilizando o vírus inteiro e inativadas, vacinas liberadas por vetores, vacinas de vírus vivos e atenuados, nessas vacinas, a produção de anticorpos neutralizantes apresentou proteção em diferentes níveis e algumas com certa toxicidade⁴².

A vacina MVA-S para animais, administradas em para dromedários contaminados por MERS induziram imunidade protetiva na redução do MERS-CoV infeccioso excretado, sem evidência para a melhoria de anticorpos dependente da carga viral durante a infecção por coronavírus felino. Considerando a natureza transitória potencial das respostas imunes da mucosa, estudos de acompanhamento necessitam determinar a longevidade dos anticorpos induzidos pela vacina MVA-S em relação a detecção viral, bem como o aprimoramento dependente de anticorpos frente a reaplicação quando os níveis de anticorpos estão diminuindo⁴³.

Diante desse cenário foi crescente a pesquisa em desenvolvimentos de vacinas para esses

dois novos vírus, com uma vasta gama de candidatos, abrangendo subunidades, vírus inativados por inteiro, DNA, vacinas vetorizadas, anticorpos monoclonais, entre outros que estão em desenvolvimento⁴¹.

• ESTRATÉGIA E MODELOS PARA O DESENVOLVIMENTO DA VACINA

* Vacinas de subunidade

• Subunidade Proteína S

A proteína S de SARS-CoV e MERS-CoV desempenha um papel vital na ligação de receptores e fusão de membranas, portanto é um dos principais alvos para o desenvolvimento de vacinas, assim como suas subunidades S1, NTD, RBD e subunidade S2. Dentre essas, as que mais têm respostas imunogênicas, por causa de suas sequências mantidas de aminoácidos e alta homologia entre diferentes cepas de vírus, são as subunidades S1 e a RBD^{44,45}.

• Subunidade M e N

Com potencial menor de imunogenicidade, estudos revelam a necessidade conjugação de imunoadjuvantes nas vacinas com essas subunidades para melhor desempenho, no caso de SARS-CoV. Contudo esses estudos não investigaram eficácia protetora contra a infecção. Assim, não está claro se essas vacinas de subunidade podem prevenir a infecção⁴⁶.

Para MERS-CoV, poucos estudos foram desenvolvidos sobre vacinas com essas subunidades. Entre eles, um estudo relata a indução de anticorpos específicos por peptídeos MERS-CoV N (YANG, 2014a) e outro relatório mostra que a proteína N é usada para o desenvolvimento de vacinas baseadas no vetor viral do vírus Vaccinia, Vaccinia Ankara modificada (MVA)⁴⁷.

• Vírus inteiros inativados

São vacinas que usam uma versão enfraquecida ou inativada do coronavírus para provocar uma resposta imune. Algumas vacinas com vírus inteiro atenuado foram testadas em modelos animais, e foi observada produção de anticorpos neutralizantes com diferentes níveis de proteção. Contudo notou-se também alta produção de eosinófilos, causando eosinofilia e hipersensibilidade. Além da periculosidade de se trabalhar com vírus inteiro. A fim de diminuir esse risco, vírus geneticamente atenuados podem ser usados como ponto de partida para a produção de inativação de vírus mortos ⁴².

• Vacinas Vetorizadas

Vacinas que usam um vírus para liberar partes genéticas do coronavírus nas células e provocam uma resposta imune. O vetor viral *Modified Vaccinia Ankara* (MVA) é um candidato promissor para MERS-CoV, um estudo de fase 1, conduzido entre 2017 e 2018, que investigou a vacina candidata MVA-MERS-S mostrou um perfil de segurança benigno e forneceu a primeira evidência de imunogenicidade humoral e celular induzida por essa vacina candidata em humanos ⁴⁸.

No caso de SARS-CoV, vários vetores bem conhecidos oferecem a possibilidade de proteção contra a infecção, como vetores de vírus do sarampo expressando anticorpos neutralizantes induzidos pela proteína SARS-CoV S (49). Também adenovírus recombinante que codifica a imunidade sistêmica e mucosa induzida pela proteína SARS-CoV S em um sistema de modelo de camundongo ⁵⁰.

• Vacinas para o SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2, um novo betacoronavírus, altamente patogênico que surgiu na cidade de Wuhan, na China em 2019, teve uma rápida disseminação internacional representaram uma grave emergência mundial de saúde pública (51). Segundo a Organização mundial de saúde, em junho de

2020 já se somam 7 milhões de pessoas contaminado e 400 mil pessoas morreram ³⁶.

Por tanto há uma corrida entre pesquisadores de todo o mundo para desenvolvimento de vacinas que sejam seguras e efetivas. Existem pelo menos 135 estudos em desenvolvimento com essa temática ⁵².

Fizemos uma seleção de estudos que estão em fases clínicas finais, testes em humanos, mas o caminho ainda é incerto, como se trata de uma doença tão nova é inevitável que algumas falharão e outras poderão terminar sem um resultado claro. Mas alguns podem conseguir estimular o sistema imunológico a produzir anticorpos eficazes contra o vírus.

• Vacinas Genéticas

São vacinas que usam um ou mais dos genes do coronavírus para provocar uma resposta imune. Existe duas vacinas de mRNA sendo desenvolvidas, em fase II de estudo clínicos, quando será testada em humanos, da empresa Moderna dos Estados Unidos e outra da empresa alemã BioNTech ^{53,54}.

• Vírus inteiros inativados

Duas empresas chinesas estão testando o vírus inativados com alternativa para vacinação, esses estudos já estão em fase II de estudo clínico. Uma delas é a empresa privada Sinovac Biotech e a outra Sinopharm, estatal ⁵⁵.

• Vacinas de vetores virais

Uma vacina em desenvolvimento pela empresa britânico-sueca AstraZeneca e pela Universidade de Oxford é baseada em um adenovírus de chimpanzé chamado ChAdOx1. A vacina passou pelos testes da Fase I e está iniciando os testes da Fase II / III na Inglaterra e no Brasil. E a empresa chinesa *CanSino Biologics* está testando uma vacina baseada em um adenovírus chamado Ad5, em parceria com o Instituto de Biologia da Academia de Ciências Médicas Militares do país ⁵².

• Vacina de subunidade

A empresa Novavax, com sede nos Estados Unidos, iniciou um estudo de Fase I / II com uma vacina composta de partículas microscópicas que carregavam fragmentos de proteínas de coronavírus ⁵².

VACINAS PARA O SARS-COV-2

Os esforços para o desenvolvimento da vacina para o COVID-19 estão concentrados no antígeno proteico do SARS-CoV-2, denominada de proteína Spike. Esta proteína, localizada na superfície do vírus é o mecanismo crítico de sua entrada nas células. Estudos demonstram que anticorpos contra essa proteína do COVID-19 pode bloquear a entrada do vírus e, conseqüentemente, inibindo a replicação viral, que depende da maquinaria celular ¹⁰.

Existem vacinas consideradas promissoras como a que está sendo realizada na Universidade de Oxford e a vacina produzida pela Empresa Farmacêutica chinesa Sinovac, chamada CORONAVAC, mas que em artigo de (54), demonstra que ambas se encontram em fase de pesquisa. O estado atual de desenvolvimento de vacinas inclui: 1) Três vacinas candidatas para estudos em fase I; 2) Onze candidatos à vacina em fase pré-clínica e 3) Vinte e seis candidatos à vacina em estágio de investigação científica.

Atualmente, pouco mais de uma centena de estudos estão sendo desenvolvidos para a promoção de uma vacina para SARS-CoV-2, sendo 21 candidatos em fase de avaliação clínica e 139 candidatos em fase de avaliação pré-clínica com diversos países envolvidos como a China, Estados Unidos da América e Reino Unido ³⁶. Todos os estudos têm sido conduzidos de forma rápida para avançar das diferentes fases de produção de vacina eficaz e segura contra o COVID-19.

No momento, estão em estudo, por exemplo, vacinas com o vírus inativado (na China, está em teste em humanos), outras voltadas,

especificamente, para a proteína Spike (S) do SARS-CoV-2 (ensaio clínico em humanos encontra-se em andamento por cientistas da Oxford, renomada universidade britânica). Também estão em análise o reaproveitamento de vacinas, anteriormente licenciadas, a exemplo da BCG (voltada, comumente para profilaxia contra tuberculose) e da vacina oral contra poliomielite ¹⁰. Nesse sentido notícias recentes demonstram que o Brasil participará de estudos clínicos de ambas as vacinas com parceria, respectivamente, da Fiocruz e do Instituto Butantã. Nesse artigo, muitas empresas farmacêuticas estão envolvidas em desenvolvimento de vacinas, utilizando diferentes estratégias de desenvolvimento.

Como essa é uma situação excepcional, muitos protocolos e requisitos das agências reguladoras estão a ser flexibilizados para que uma vacina contra o vírus seja desenvolvida. Contudo, mesmo perante o momento atípico, espera-se que as agências mantenham as exigências, para com os desenvolvedores, que verifiquem respostas que possam vir a ser prejudiciais ao homem a partir dos estudos com outros animais, além de uma avaliação criteriosa nos ensaios clínicos em humanos ⁵⁶.

Assim que efetivamente desenvolvida a vacina contra SARS-CoV-2, novos desafios serão encontrados, entre eles a capacidade de produção da vacina a escala global, visto que as demais vacinas incluídas nos protocolos e diretrizes oficiais não deixem de serem produzidas. Também, qual a plataforma de produção seria a mais eficaz e segura para a fabricação da vacina de forma rápida, algumas plataformas recentes como biologia computacional, engenharia de tecidos e síntese de genes poderiam ser a solução para essa produção a nível mundial ^{12,57}.

Além disso, algumas incógnitas ainda permeiam a produção da vacina como, por exemplo, a sua proteção (anticorpos anti-COVID) a curto e a longo prazo para os receptores, uma vez que etapas da elaboração de vacinas estão sendo antecipadas (geralmente o processo tem

duração entre 12 a 15 anos). Outra preocupação é a eficácia da vacina frente a potenciais mutações que o SARS-Cov-2 possa sofrer futuramente. No entanto, a comunidade científica mundial, tem-se debruçado na busca contínua para o desenvolvimento de uma vacina com eficácia e segurança satisfatórios ⁵⁷.

CONCLUSÕES

A tecnologia moderna de vacinas tem demonstrado que é possível proteger a população de diversas doenças, incluindo o SARS-CoV-2. Embora a propaganda anti-vacinação, embora aconteça há séculos, ela persiste por questões individuais, desconfianças arraigadas em preceitos religiosos e por completa desinformação. Não obstante esse fato, atualmente, frente a pior pandemia do século XXI, toda a população anseia por uma vacina capaz de combater esse inimigo invisível e letal: o COVID-19. Muito dos estudos que estão sendo conduzidos de maneira célere, são oriundos de experiências e tecnologias já empregadas para os anteriores coronavírus (SARS-CoV-1 e MERS). Portanto, a partir do esforço hercúleo dos cientistas de todo o mundo, há esperança de uma vacina, quiçá até o final do ano de 2020 ou no mais tardar no primeiro semestre de 2021. Confiando ou não em programas de vacinação, em face do enorme sofrimento causado ao ser humano, o SARS-CoV-2 poderá ser uma nova era para que a população mundial crer que a vacina salva vidas.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos a Profa. Dra. Chung Man Chin, Faculdade de Medicina da UNILAGO, União das Faculdades dos Grandes, São José do Rio Preto Lagos e ao CEPAM – Centro de Pesquisa Avançada em Medicina, pela oportunidade de contribuir na redação do presente capítulo. A todos os envolvidos nesse trabalho meus agradecimentos pelo valioso esforço coletivo na organização e redação.

REFERÊNCIAS

1. McCullers JA. Evolution, benefits, and shortcomings of vaccine management. *J Manag Care Pharm.* 2007;13(7 SUPPL.):2–6.
2. On the wrong side of history. *Nat Microbiol.* 2017;2(March):17046.
3. Helfert S. Historical Aspects of Immunization and Vaccine Safety Communication. *Curr Drug Saf.* 2015;10(1):5–8.
4. Wolfe RM, Sharp LK. Anti-vaccinationists past and present. *Br Med J.* 2002;325(7361):430–2.
5. Fichman M, Keelan JE. Resister's logic: the anti-vaccination arguments of Alfred Russel Wallace and their role in the debates over compulsory vaccination in England, 1870-1907. *Stud Hist Philos Sci Part C Stud Hist Philos Biol Biomed Sci.* 2007;38(3):585–607.
6. Plotkin S. History of vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(34):12283–7.
7. McClure CC, Cataldi JR, O'Leary ST. Vaccine Hesitancy: Where We Are and Where We Are Going. *Clin Ther.* 2017;39(8):1550–62.
8. Dellepiane N, Wood D. Twenty-five years of the WHO vaccines prequalification programme (1987-2012): Lessons learned and future perspectives. *Vaccine [Internet].* 2015;33(1):52–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.066>
9. Mukherjee R. Global efforts on vaccines for COVID-19: Since, sooner or later, we all will catch the coronavirus. *J Biosci [Internet].* 2020;45(1). Available from: <https://doi.org/10.1007/s12038-020-00040-7>
10. Caddy S. Developing a vaccine for covid-19. *BMJ [Internet].* 2020;369(May):1–2. Available from: <http://dx.doi.org/doi:10.1136/bmj.m1790>
11. Edwards KM, Hackell JM, Byington CL, Maldonado YA, Barnett Md ED, Davies HD, et al. Countering vaccine hesitancy. *Pediatrics.* 2016;138(3).
12. Graham BS. Rapid COVID-19 vaccine development. *Science (80-) [Internet].* 2020;368(6494). Available from: <https://science.sciencemag.org/content/368/6494/945?rss=1>
13. Cohen MS, Corey L. Combination prevention for COVID-19. *Science (80-).* 2020;368(6491):551.
14. Francis MJ. Recent Advances in Vaccine Technologies. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 2018;48(2):231–41.
15. Kis Z, Shattock R, Shah N, Kontoravdi C. Emerging Technologies for Low-Cost, Rapid Vaccine Manufacture. *Biotechnol J.* 2019;14(1):1–36.

16. Wen EP, Ellis R, Pujar NS. Vaccine development and manufacturing. *Vaccine Dev Manuf.* 2014;1–440.
17. Helen H Mao SC. *Advances in Vaccines.* 2019;
18. Nasab FP, Aebi M, Bernhard G, Frey AD. A combined system for engineering glycosylation efficiency and glycan structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol.* 2013;79(3):997–1007.
19. Wildt S, Gerngross TU. The humanization of N-glycosylation pathways in yeast. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3(2):119–28.
20. Laurent JM, Young JH, Kachroo AH, Marcotte EM. Efforts to make and apply humanized yeast. *Brief Funct Genomics.* 2016;15(2):155–63.
21. Larsen S, Weaver J, de Sa Campos K, Bulahan R, Nguyen J, Grove H, et al. Mutant strains of *Pichia pastoris* with enhanced secretion of recombinant proteins. *Biotechnol Lett.* 2013;35(11):1925–35.
22. Love KR, Politano TJ, Panagiotou V, Jiang B, Stadheim TA, Love JC. Systematic single-cell analysis of *pichia pastoris* reveals secretory capacity limits productivity. *PLoS One.* 2012;7(6):1–11.
23. Yang S, Kuang Y, Li H, Liu Y, Hui X, Li P, et al. Enhanced Production of Recombinant Secretory Proteins in *Pichia pastoris* by Optimizing Kex2 P1' site. *PLoS One.* 2013;8(9):1–11.
24. Roldão A, M MC, Mellado LR, Castilho MJ, Carrondo A, Alves PM. Virus-like particles in vaccine development. 2010;
25. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Capítulo 5: Anticorpos e Antígenos. *Imunol Cel e Mol.* 2015;1260.
26. Baker TS, Newcomb WW, Olson NH, Cowser LM, Olson C, Brown JC. Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophys J* [Internet]. 1991;60(6):1445–56. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(91\)82181-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(91)82181-6)
27. Chen XS, Garcea RL, Goldberg I, Casini G, Harrison SC. Structure of small virus-like particles assembled from the L1 protein of human papillomavirus 16. *Mol Cell.* 2000;5(3):557–67.
28. Suzich JA, Ghim SJ, Palmer-Hill FJ, White WI, Tamura JK, Bell JA, et al. Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(25):11553–7.
29. Rose RC, Bonnez W, Reichman RC, Garcea RL. Expression of Human Papillomavirus Type 11. *1993;67(4):1936–44.*
30. Hagensee ME, Yaegashi N, Galloway DA. Self-Assembly of Human Papillomavirus Type 1 Capsids by the L1 and L2 Capsid Proteins. *Assembly.* 1993;67(1):315–22.
31. Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, Lowy DR, Schiller JT. Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(24):12180–4.
32. Vaccines AM. A public health story. 2020;1–6.
33. Vajdy M, Srivastava I, Polo J, Donnelly J, O'Hagan D, Singh M. Mucosal adjuvants and delivery systems for protein-, DNA- and RNA-based vaccines. *Immunol Cell Biol.* 2004;82(6):617–27.
34. Elbers TK and K. *Introduction to RNA Vaccines.* 2017;
35. Brito LA, Kommareddy S, Maione D, Uematsu Y, Giovani C, Berlanda Scorza F, et al. Self-Amplifying mRNA Vaccines [Internet]. Vol. 89, *Advances in Genetics.* Elsevier Ltd; 2015. 179–233 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.adgen.2014.10.005>
36. Coronavirus infections: disease outbreak News. [Internet]. 2020. Available from: <https://covid19.who.int/>
37. Zimmermann P. *crossm.* 2019;32(2):1–50.
38. Almeida AM, Queiroz JA, Sousa F, Sousa Â. Cervical cancer and HPV infection: ongoing therapeutic research to counteract the action of E6 and E7 oncoproteins. *Drug Discov Today.* 2019;24(10):2044–57.
39. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Saudi Arabia [Internet]. Available from: <https://www.who.int/csr/don/26-april-2016-mers-saudi-arabia/en/>
40. Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 2012;367(19):1814–20.
41. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pacific J Allergy Immunol.* 2020;38(1):1–9.
42. Enjuanes L, Zuñiga S, Castaño-Rodríguez C, Gutierrez-Alvarez J, Canton J, Sola I. Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development. *Adv Virus Res.* 2016;96:245–86.
43. Haagmans BL, Van Den Brand JMA, Raj VS, Volz A, Wohlsein P, Smits SL, et al. An orthopoxvirus-based vaccine reduces virus excretion after MERS-CoV infection in dromedary camels. *Science (80-).* 2016;351(6268):77–81.

44. Elshabrawy HA, Coughlin MM, Baker SC, Prabhakar BS. Human Monoclonal Antibodies against Highly Conserved HR1 and HR2 Domains of the SARS-CoV Spike Protein Are More Broadly Neutralizing. *PLoS One*. 2012;7(11):1–9.
45. Zhou Y, Jiang S, Du L. Prospects for a MERS-CoV spike vaccine. *Expert Rev Vaccines* [Internet]. 2018;17(8):677–86. Available from: <https://doi.org/10.1080/14760584.2018.1506702>
46. Wang N, Shang J, Jiang S, Du L. Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. *Front Microbiol*. 2020;11(February).
47. Veit S, Jany S, Fux R, Sutter G, Volz A. CD8+ T cells responding to the middle east respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein delivered by vaccinia virus MVA in mice. *Viruses*. 2018;10(12).
48. Koch T, Dahlke C, Fathi A, Kupke A, Krähling V, Okba NMA, et al. Safety and immunogenicity of a modified vaccinia virus Ankara vector vaccine candidate for Middle East respiratory syndrome: an open-label, phase 1 trial. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(7):827–38.
49. Escriou N, Callendret B, Lorin V, Combredet C, Marianneau P, Février M, et al. Protection from SARS coronavirus conferred by live measles vaccine expressing the spike glycoprotein. *Virology* [Internet]. 2014;452–453:32–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2014.01.002>
50. Shim BS, Stadler K, Nguyen HH, Yun CH, Kim DW, Chang J, et al. Sublingual immunization with recombinant adenovirus encoding SARS-CoV spike protein induces systemic and mucosal immunity without redirection of the virus to the brain. *Virol J*. 2012;9:1–9.
51. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* [Internet]. 2020;581(7807):215–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
52. Corum J, Zimmer C. Coronavirus vaccine tracker - The New York Times. 2020;1–16. Available from: <https://www.nytimes.com/interactive/2020/science/coronavirus-vaccine-tracker.html>
53. Moderna. Moderna Receives FDA Fast Track Designation for mRNA Vaccine (mRNA-1273) Against Novel Coronavirus. *Bus Wire* [Internet]. 2020;3:9–10. Available from: <https://www.businesswire.com/news/home/20200512005277/en/Moderna-Receives-FDA-Fast-Track-Designation-mRNA>
54. Zhu FC, Li YH, Guan XH, Hou LH, Wang WJ, Li JX, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet* [Internet]. 2020;6736(20):1–10. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)
55. Veugelers R, Zachmann G. Racing against COVID-19: a vaccines strategy for Europe. *Policy Contrib*. 2020;(7).
56. Jiang S. Don't rush to deploy COVID-19 vaccines and drugs without sufficient safety guarantees. *Nature*. 2020;579(7799):321.
57. Calina D, Docea AO, Petrakis D, Egorov AM, Ishmukhametov AA, Gabibov AG, et al. Towards effective COVID-19 vaccines: Updates, perspectives and challenges (Review). *Int J Mol Med*. 2020;3–16.