

DESENVOLVIMENTO DE VACINAS CONTRA O CORONAVÍRUS

Vacinas - definição geral

As vacinas têm por objetivo provocar uma resposta imune eficaz em um indivíduo (vacinado) frente a um agente infeccioso causador de doença. Ao longo da história, diferentes campanhas de imunização foram fundamentais na erradicação de doenças como, por exemplo, a poliomielite e varíola, além de contribuir enormemente para o controle de outras tantas doenças infecciosas, tais como o sarampo, meningites, tétano, coqueluche das quais dispomos de vacinas eficazes. A proteção contra determinadas doenças infecciosas ocorre pela estimulação do sistema imune levando à produção de anticorpos. Devido ao grande avanço tecnológico nos últimos anos a engenharia biomédica se tornou uma ferramenta essencial para a saúde pública, sendo possível o desenvolvimento rápido, seguro e eficaz de vacinas em um tempo reduzido, como é a projeção para a vacina contra a COVID-19 com expectativas para o primeiro semestre de 2021. As vacinas possuem diversos componentes que garantem uma suspensão segura e eficaz para administração [1-3].

Componentes de uma vacina

Agente imunizante: As vacinas são formulações imunobiológicas que podem dispor de um ou mais agente(s) imunizante(s), logo elas são divididas em vacinas isoladas ou combinadas. Esses antígenos são diferenciados de acordo com sua natureza, sendo os vírus e bactérias em suas formas atenuadas ou inativadas. Outros componentes derivados desses agentes, como as proteínas e os ácido-nucleicos isolados e purificados por métodos químicos/físicos, também são considerados imunizantes e podem ser usados nas soluções vacinais [1;4].

Líquido de suspensão: Água estéril ou solução salina fisiológica, podendo ser adicionado proteínas ou outras substâncias necessárias. Normalmente essas substâncias acrescentadas são provenientes do meio de cultura utilizado para os testes *in vitro*, ao qual as culturas celulares foram mantidas [1;5].

Preservativos/Conservantes: São inseridos na formulação para evitar o crescimento de agentes contaminantes, seja resultante de bactérias ou fungos. Usualmente aplica-se o uso timerosal ou derivados fenólicos (ex: 2-fenoxietanol) nessa classe [1;2;5].

Estabilizadores (nutrientes): Essa classe dos compostos é muito importante, pois permitem maior estabilidade as soluções durante períodos mais prolongados. São conhecidos também como “nutrientes”, uma vez que são comumente utilizados em vacinas com vírus atenuados ou vacinas bacterianas. Estas vacinas acabam se tornando mais instáveis em virtude da

Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

hidrólise e agregação de moléculas sofridas em sua formulação. Os estabilizantes incluem: açúcares (sucrose e lactose); proteínas (gelatina); aminoácidos (glicina e glutamato monossódico); $MgCl_2$ (cloreto de magnésio) e $MgSO_4$ (sulfato de magnésio) [1;5].

Substâncias antibióticas ou germicidas: Impedem o crescimento de microrganismos contaminantes em algumas vacinas, são adicionados em pequenas quantidades (Ex: antibióticos ou germicidas). Isto garante melhor qualidade no armazenamento do produto e evita a contaminação durante seu processo de produção [5-6].

Adjuvantes: São componentes adicionados à formulação com intuito de melhorar a eficácia da vacina, através do aumento do poder imunogênico provocado por algumas substâncias. Usualmente, compostos contendo sais de alumínio são usados como adjuvantes [1;5].

Vias de inoculação:

A administração incorreta das vacinas pode influenciar na eficácia do produto, afetando então o estímulo à resposta imune do indivíduo. Dessa forma, a escolha do local de aplicação não é aleatória, visto que é necessário conhecer a solubilidade da formulação empregada, e quais locais no organismo essas substâncias seriam melhores absorvidas de forma segura. A maioria das vacinas são administradas via intramuscular e subcutânea, pois é comprovado que a aplicação por essas vias proporcionam uma redução nos seus possíveis efeitos adversos e estimulam uma melhor resposta imune. Em alguns casos é preciso que haja doses de reforços, porém este parâmetro é variável para cada vacina [7-8]. Como exemplo, podemos citar a vacina BCG que possui dose única - com via de aplicação intradérmica- caso seja administrado por via subcutânea, pode provocar a formação de abscessos, devido a presença do adjuvante em sua formulação. Em contrapartida a vacina contra a gripe Influenza necessita de duas doses anuais quando aplicada em crianças maiores de 6 meses e com idade inferior a 9 anos, e uma dose única anual para as demais populações, pois a vacina é produzida de acordo com os vírus circulantes no ano anterior [1;2]

SARS-CoV-2 e Vacinas

A COVID-19 é uma doença com sintomas prioritariamente pulmonares que podem variar em intensidade e comprometimento. O vírus que causa a COVID-19 é transmitido principalmente por meio de gotículas geradas quando uma pessoa infectada tosse, espirra ou exala. Essas gotículas permanecem por um tempo no ar e são depositadas em pisos ou superfícies e a infecção ocorre por inalação ou ao levar as mãos contaminadas nos olhos, nariz ou boca. A rápida progressão do número de casos, bem como o número de mortes por COVID-19 recrutaram pesquisadores do mundo todo a concentrar esforços no desenvolvimento de uma vacina que seja eficaz e segura para a população.

Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

O SARS-CoV-2 é um beta coronavírus, da ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae* e subfamília *Orthocoronaviridae*, e é um vírus envelopado de aproximadamente 80 a 160 nm de diâmetro, com um genoma de RNA fita simples não segmentado e polaridade positiva (ssRNA), que varia de 26 a 32 kb [9-10]. Possui duas regiões não traduzidas (UTRs *do inglês untranslated region*) e 6 fases abertas de leitura (ORF, *do inglês open reading frame*) e codifica 4 proteínas estruturais principais: a espícula (S), envelope (E), proteína de membrana (M) e nucleocapsídeo (N) [11-13]. A proteína S parece ser o principal alvo do desenvolvimento de vacinas.

Diferentes estratégias podem ser adotadas na concepção de uma vacina, dependendo do agente infeccioso em questão. Em relação aos vírus, os principais exemplos são: vacinas de agentes vivos atenuado (por exemplo, a vacina da Febre amarela), vacinas de agentes inativados (por exemplo, a vacina da gripe), vacinas a base de proteínas, as quais utilizam regiões específicas, ou “pedaços”, dos agentes infecciosos (por exemplo, a vacina para a hepatite B), e nos últimos anos, vacinas desenvolvidas a partir do ácido nucleico (DNA ou RNA) do agente infeccioso ou as chamadas vacinas de vetores virais. Importante, independente da estratégia adotada, é que a vacina deve provocar uma boa resposta imune de forma segura, que possa ser produzida em larga escala e com baixo custo, se possível (Figura 1).

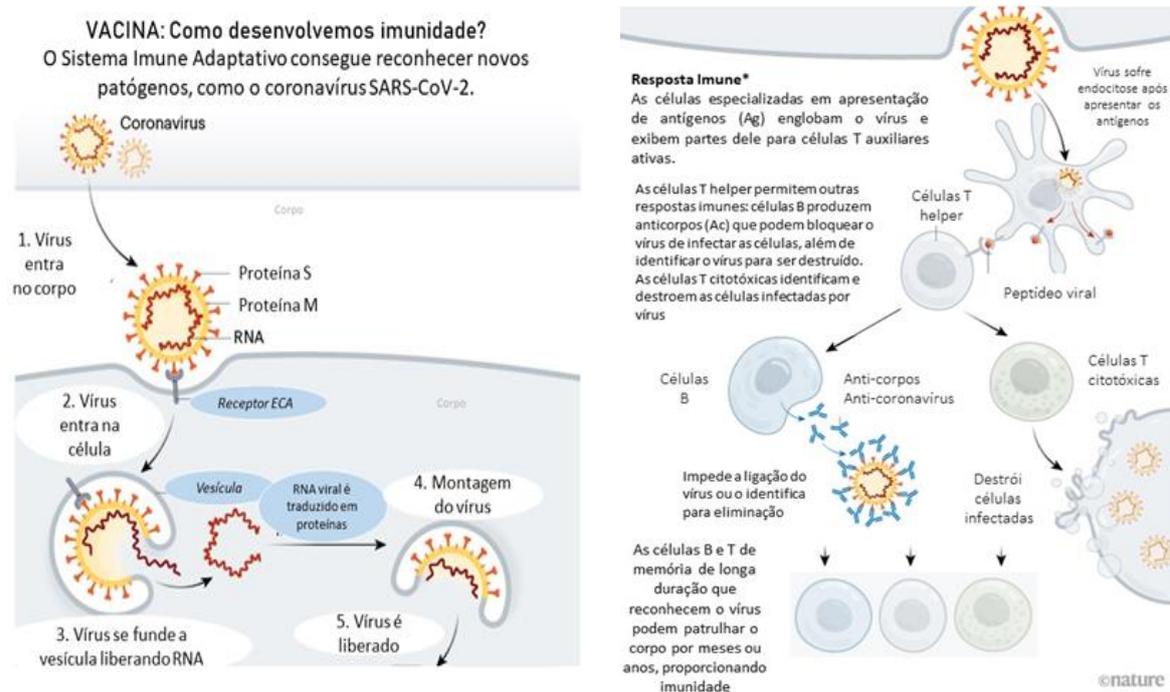


Figura 1. Representação celular esquematizando a Resposta Imune Adaptativa do organismo humano frente ao vírus SARS-CoV-2 após a vacinação.

Fonte: Nature - News Feature ; <<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01221-y>>

Diante disso, e considerando o recente surgimento da pandemia de COVID-19, causada por um novo agente infeccioso, o SARS-CoV-2, o desenvolvimento de uma vacina eficaz tem ganhado grande importância no cenário científico internacional. Em um recente levantamento, foram apontadas aproximadamente 142 vacinas candidatas em fase de desenvolvimento, divididas em projetos em fase exploratória, pré-clínica e em ensaios clínicos (fase I e/ou II) [14-15] (Figura 2). Entre as estratégias aplicadas ao desenvolvimento de cada uma das possíveis vacinas estão:

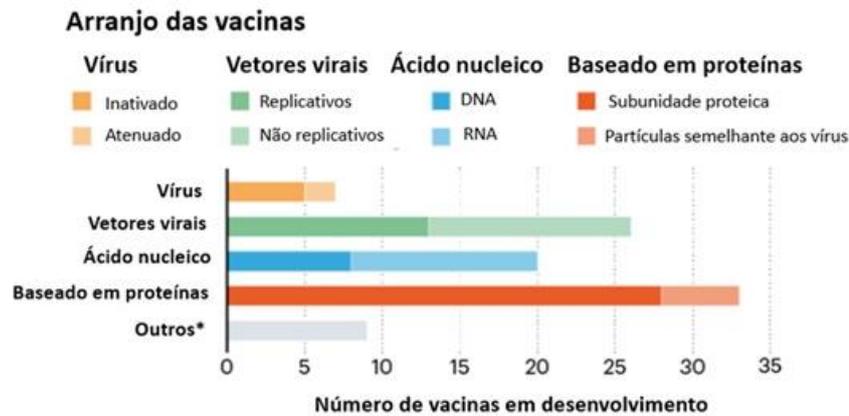


Figura 2. Esquematização gráfica da distribuição de vacinas segundo as diferenças técnicas aplicadas em seu desenvolvimento.

Fonte: Nature - News Feature ; <<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01221-y>>

Vacinas virais: são constituídas por vírus inteiros, atenuados ou inativados. A resposta imune inata e adaptativa são ativadas de forma muito semelhante a que o vírus selvagem desencadearia. Ao mesmo tempo, são vacinas que necessitam de rigorosos estudos de segurança, principalmente as desenvolvidas a partir de vírus atenuados (Figura 3). Uma vacina de vírus vivo atenuado vem sendo desenvolvida pela empresa Sinovac, já em estudo clínico, fase I, ao passo que uma vacina de vírus inativado vem sendo desenvolvida pela Sinopharm; ambas empresas chinesas.

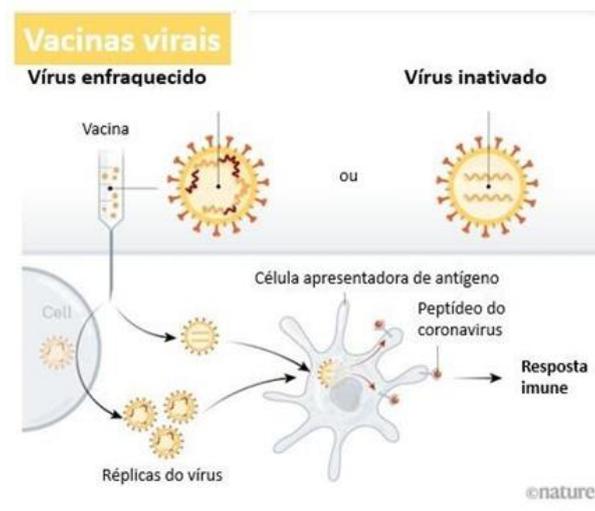


Figura 3. Ilustração demonstrando a ativação da Resposta Imune humana, a partir das vacinas virais provenientes de vírus enfraquecidos (atenuados) e inativados.

Fonte: Nature - News Feature ; <<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01221-y>>

Vacinas de vetores virais: nessa estratégia, um vírus como o adenovírus, por exemplo, é geneticamente modificado de modo que produza proteínas do SARS-CoV-2, que são as responsáveis por promover a imunidade no indivíduo. Neste caso, o adenovírus atua como um vetor, o qual “carrega” informações do SARS-CoV-2. É importante dizer que o vetor, por ser um vírus atenuado não causa doença no indivíduo. Ainda, dentro dessa estratégia, os vetores podem se replicar ou não dentro das células (vetores replicativos e não replicativos) (Figura 4). Entre as vacinas candidatas deste grupo está a desenvolvida pela empresa CanSino (China), a qual utiliza um adenovírus como vetor viral e o gene S do SARS-CoV-2 como antígeno.

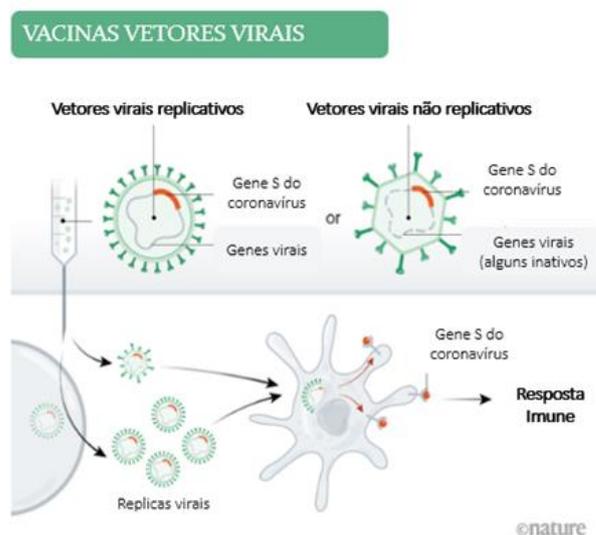


Figura 4. Representação da ativação da Resposta Imune humana, após vacinação proveniente de vacinas compostas por vetores virais replicativos e não replicativos. Fonte: Nature - News Feature ; <<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01221-y>>

Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

Vacinas de ácidos nucleicos: nesta estratégia, um fragmento de DNA ou RNA contendo a informação de uma proteína do SARS-CoV-2 é administrado no indivíduo. Uma vez dentro das células, tais moléculas serão expressas em proteínas, as quais induziriam resposta imune específica (Figura 5). Essa tecnologia ainda não foi aplicada em vacinas para nenhuma doença, mas estudos para a COVID-19 vêm sendo realizados por empresas como a Inovio Pharmaceuticals (Pensilvânia, EUA), num estudo clínico de fase I que avalia uma vacina de DNA plasmidial com o gene S do SARS-CoV-2. Há também outras vacinas de ácidos nucleicos sendo avaliadas.

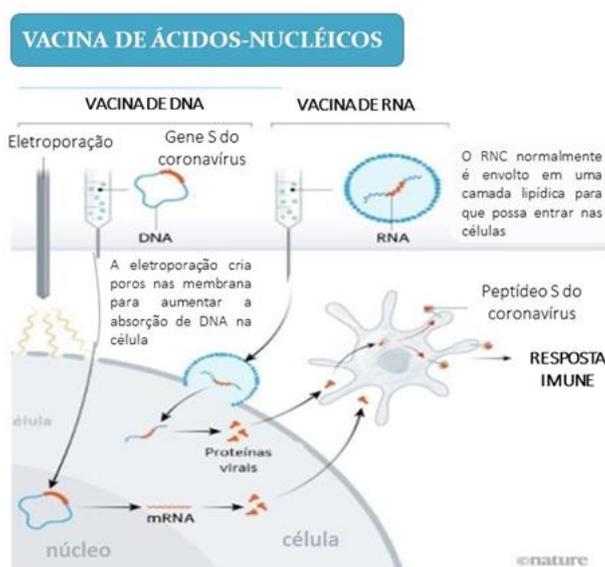


Figura 5. Demonstração da ativação da Resposta Imune humana, após vacinação proveniente de vacinas compostas por ácidos nucleicos.

Fonte: Nature - News Feature ; <<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01221-y>>

Vacinas protéicas: são produzidas a partir de proteínas purificadas (toxóides diftéricos, por exemplo) ou obtidas a partir de DNA recombinante (hepatite B, por exemplo). Em ambos os exemplos, uma proteína, ou “pedaço” do agente infeccioso é utilizado para induzir imunidade específica nos indivíduos (Figura 6). Algumas vacinas candidatas e em fase pré-clínica estão sendo avaliadas para o uso frente ao SARS-CoV-2.

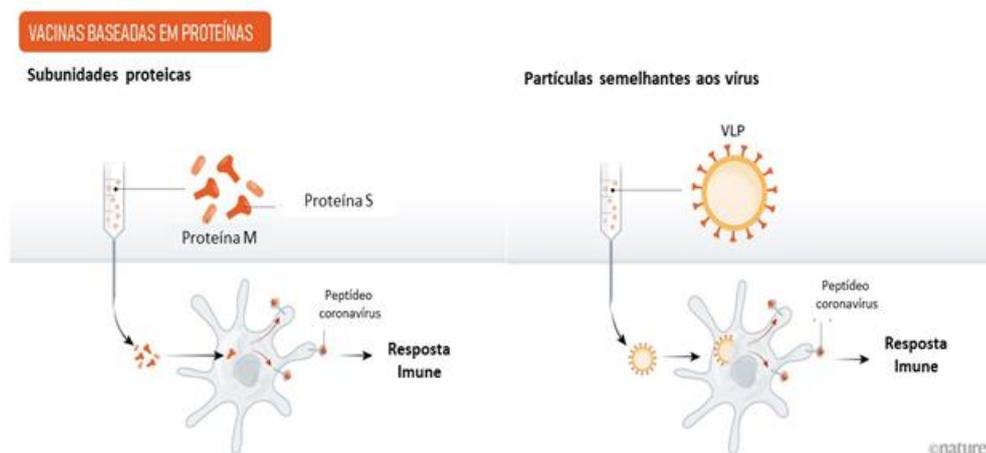


Figura 6. Representação da ativação da Resposta Imune humana, após vacinação com base em proteínas, utilizando subunidades proteicas e partículas semelhantes às virais.

Fonte: Nature - News Feature ; <<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01221-y>>

A Organização Mundial de Saúde, disponibiliza em sua página (link <https://www.who.int/who-documents-detail/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>) as principais informações acerca de vacinas em desenvolvimento para a COVID-19, entre as quais a estratégia utilizada, desenvolvedores e estágios dos respectivos estudos.

Os principais desenvolvedores de vacinas para a COVID-19 estão distribuídos em 19 países. A América do Norte conta com 36 (46%) desenvolvedores dos candidatos a vacinas ativas confirmadas, a China com 14 (18%), Ásia (exceto China) e Austrália com 14 (18%), assim como a Europa com 14 (18%) também. A informação pública sobre o exato mecanismo utilizado para a produção das vacinas são limitadas, sabe-se que a maioria dos candidatos tem como objetivo induzir anticorpos neutralizantes contra a proteína S do vírus, impedindo a captação por meio do receptor ECA2 humano. No entanto, informações de como as diferentes formas e/ou variantes da proteína S usadas em diferentes candidatos se relacionam entre si ou com a epidemiologia genômica da doença não é explicitada.

O esforço global de pesquisadores para uma resposta vacinal à pandemia de COVID-19 é algo sem precedentes na história do caminho do desenvolvimento tradicional de vacinas. Para o Ebola o cronograma acelerado de cinco anos na produção da primeira vacina já foi considerado um recorde. Pelo fato do SARS-CoV-2 ser um vírus novo, alguns aspectos podem ser vistos como desafios para a produção da vacina, pois será necessário um novo conjunto de padrões que vise ponderações científicas, de saúde pública e questões técnicas que garanta uma resposta rápida e segura para uso clínico. Portanto, novos paradigmas quanto à fases de desenvolvimento, escala de produção, processos regulatórios,

equipamento e staff que respondam em escala serão exigidos. O preço com que chegará ao mercado também é um fator importante/ limitante pois delimita o acesso à população geral, ficando contemplados somente pessoas do grupo de risco [16].

Vacinação e ADE

Um dos primeiros riscos a serem combatidos durante a pesquisa e desenvolvimento de uma vacina, é a segurança deste produto, garantindo que o indivíduo não venha desenvolver a doença devido a vacinação [17-18]. A intensificação dependente de Anticorpo (ADE) é um fator muito importante a ser considerado. Essa situação pode ocorrer quando os anticorpos neutralizantes antivirais não conseguem neutralizar completamente o vírus. Em vez disso, o complexo vírus-anticorpo não neutralizante se liga ao receptor Fc (FcR) da célula, levando à endocitose viral e infecção das células alvo. O resultado é um aumento na replicação do vírus e maior gravidade da doença. Essa situação pode também ativar a sinalização pró-inflamatória, levando ao acúmulo de macrófagos pró-inflamatórios (M1 ou ativados classicamente) nos pulmões. Os macrófagos M1 secretam citocinas inflamatórias como MCP-1 e IL-8, levando a lesão pulmonar. Conseqüentemente, esta ação acaba provocando uma doença mais grave e exacerbada. Logo, uma vacina para COVID-19 deveria suprir essa necessidade caso se torne uma doença sazonal [17-20].

Vacinação em idosos

Os idosos são considerados grupo de risco e devido a um imunocomprometimento fisiológico apresentam maiores possibilidades de manifestar a forma mais severa da COVID-19 quando comparada com a população mais jovem. Dessa forma, quando pensamos no desenvolvimento e produção de uma vacina, os idosos devem ser observados e avaliados com maior cuidado [17;21]. Portanto, um dos critérios necessários seria em uma possível diferenciação na titulação da vacina para essa população. Vale ressaltar que, mesmo com uma vacina que não seja totalmente eficaz, porém segura, os idosos ainda seriam beneficiados de maneira indireta por intermédio da imunização ativa dos mais jovens [17;22].

Dificuldades do teste *in vivo*

Após serem elaboradas as vacinas precisam ser testadas a fim de avaliar sua segurança e eficácia, para tal elas são aplicadas e analisadas em modelos de testagem animal. Neste ponto encontra-se uma barreira para a COVID-19, visto que o vírus SARS-CoV-2 interage com enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) presente nas células humanas, garantindo sua transmissibilidade e infecciosidade. Logo, para o teste em animais

Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

é preciso que a cobaia expresse esta enzima em suas células e dessa forma, será possível obter uma resposta à vacina mais semelhante a resposta humana. Geralmente, testes em *in vivo* são feitos utilizando camundongos selvagens devido a facilidade de obtenção, manutenção e infraestrutura do local. No entanto, o SARS-CoV-2 não apresenta manifestações nesses camundongos em virtude da falta da enzima ECA2, o que acaba dificultando o processo para alguns pesquisadores [18-24].

O vírus SARS-CoV, responsável pela síndrome respiratória aguda grave (SARS), foi identificado em 2002 e também é um vírus dependente da enzima ECA, por esse motivo dados preliminares da vacina para da SARS foram utilizados no desenvolvimento da vacina para a COVID-19 devido a semelhanças nesse ponto chave. Uma possível vacina para a SARS1 nunca chegou a sua etapa final devido à falta de interesse das instituições públicas e privadas, uma vez que a epidemia da SARS foi controlada [18;25].

A vacina BCG e a COVID-19

Alguns estudos estão sendo realizados a respeito da capacidade de atuação da vacina BCG frente a COVID-19. Desde 1930 cientistas observam que a BCG possui propriedades inespecíficas e com isso reduz danos de doenças além da tuberculose. Por esse motivo alguns países da Europa continuaram com as campanhas de vacinação para BCG mesmo após a erradicação da tuberculose, porém outros países suspenderam esta política. Recentemente, após o surgimento do novo coronavírus, pesquisadores notaram que nos países onde a política de vacinação para BCG foi mantida, a incidência de casos da COVID-19 foi menor em comparação aos países onde a vacinação foi suspensa.

Dois ensaios clínicos que avaliaram a eficácia da BCG em profissionais da saúde com contato direto com pacientes infectados por SARS-CoV-2 estão sendo desenvolvidos na Austrália e na Holanda, com previsão dos primeiros resultados para outubro de 2020. O ensaio Australiano pretende reunir 10.078 participantes e dividi-los em um grupo que receberá uma dose da BCG e outro que receberá 0,9% placebo NaCl, para assim avaliar se a vacina protege ou reduz os efeitos da COVID-19 [26]. Já nos Países Baixos os pesquisadores pretendem reunir 1.500 profissionais de saúde e dividi-los em um grupo que receberá uma dose da vacina e outro que receberá um placebo, a fim de avaliar se a BCG reduz o absentéismo desses profissionais [27].

Paralelo a estes dois estudos, vêm sendo desenvolvido na Espanha um estudo para avaliar a atuação da MTBVAC uma vacina atenuada de *Mycobacterium tuberculosis*, para o SARS-Cov-2. Desde 2008 pesquisadores espanhóis em parceria com o laboratório Biofabri (Espanha) trabalham avaliando a eficácia da MTBVAC em relação à tuberculose, sob a justificativa de que a BCG previne as formas graves desta doença em crianças, porém não possui o mesmo efeito em adolescentes e adultos. Atualmente, a equipe publicou os resultados de um ensaio realizado na África do Sul, e concluíram que a MTBVAC foi capaz

Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

de estimular o sistema imunológico melhor que a BCG. Após o surgimento da COVID-19, estes pesquisadores em parceria com pesquisadores holandeses resolveram avaliar a atuação da MTBVAC na COVID-19, para isso pretendem utilizar macacos, para comparar a proteção contra o SARS-CoV-2 propiciada pela vacina espanhola (MTBVAC) em comparação com a BCG. O experimento será realizado no Centro de Pesquisas Biomédicas com Primatas (BPRC) dos Países Baixos e terá resultados em quatro meses, para depois começarem os testes em humanos [28].

Conclusão

A principal função de uma vacina é estimular uma resposta imune neutralizante e duradoura. Apesar de toda a complexidade na produção de uma vacina, o avanço tecnológico tem propiciado significativas conquistas para a saúde. Diante da situação atual o desenvolvimento e a produção de uma vacina eficaz e segura contra a COVID-19 tornou-se uma necessidade premente para o combate à doença. Em breve, uma vacina desenvolvida pela Universidade de Oxford, na Inglaterra, será testada em 2 mil voluntário em São Paulo e outros mil no Rio de Janeiro. Esses testes fazem parte dos protocolos para registro da vacina no Reino Unido. A vacina desenvolvida em parceria com a empresa farmacêutica AstraZeneca (Inglaterra) está atualmente em fase 3, um estágio bastante avançado no desenvolvimento e a expectativa é para que esteja liberada para o uso no início de 2021. Outra vacina, desenvolvida pela empresa Sinovac (China) começará a ser testada em 9 mil voluntários brasileiros em uma parceria com o Instituto Butantã, que futuramente poderá contribuir para a produção da vacina no Brasil.

Portanto, observamos um esforço mundial para que tenhamos a possibilidade de uma vacina em tempo recorde de desenvolvimento, tal qual, o momento necessita. Conforme citado, outras 142 vacinas candidatas estão em desenvolvimento, estando distribuídas em vários continentes: América do Norte, Ásia, Oceania e Europa. Mesmo com poucas informações divulgadas sobre seus mecanismos de ação, é de conhecimento público que a maioria das candidatas apresentam ação de indução de anticorpos neutralizantes frente a proteína S do vírus SARS-CoV-2, dificultando então a ligação com o receptor ECA2.

Sabemos que questões técnicas serão um grande desafio para a produção final em larga escala de uma vacina, portanto, estamos diante de um momento histórico em que padrões de produção e regulação que existiam anteriormente precisarão ser revistos devido a urgência na pandemia da COVID-19, porém sem alterar a eficácia e a segurança do produto final.

Referências

- [1] MANUAL DE NORMAS DE VACINAÇÃO. 3ª Edição. Brasília. Ministério da Saúde-Fundação Nacional da Saúde (FUNASA). 2001. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/manu_normas_vac.pdf
- [2] BALLALAI, I.; BRAVO, F. (Org.). Imunização: tudo o que você sempre quis saber. Rio de Janeiro. RMCOM, 2016. <https://sbim.org.br/images/books/imunizacao-tudo-o-que-voce-sempre-quis-saber.pdf>
- [3] WHO | Q&A on vaccines. (2019). WHO, Questions-and-answers, 2019 <https://www.who.int/vaccines/questions-and-answers>
- [4] HERZOG, C. Influence of parenteral administration routes and additional factors on vaccine safety and immunogenicity: a review of recent literature. **Expert Review Of Vaccines**, [s.l.], v. 13, n. 3, p. 399-415, 10 fev. 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1586/14760584.2014.883285>.
- [5] WHO | Vaccine Safety Basics. Components of a vaccine (Module 2). (2020). WHO COMPONENTS OF A VACCINE, 2020. <https://vaccine-safety-training.org/vaccine-components.html>
- [6] APS, L. R. M. M.; PIANTOLA, M. A. F.; PEREIRA, S. A.; CASTRO, J. T.; SANTOS, F. A. O.; FERREIRA, L. C. S. Eventos adversos de vacinas e as consequências da não vacinação: uma análise crítica. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 52, p. 40, 5 abr. 2018. Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA). <http://dx.doi.org/10.11606/s1518-8787.2018052000384>
- [7] ZHANG, L.; WANG, W.; WANG, S. Effect of vaccine administration modality on immunogenicity and efficacy. **Expert Review Of Vaccines**, [s.l.], v. 14, n. 11, p. 1509-1523, 27 ago. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1586/14760584.2015.1081067>.
- [8] COOK, I. F. Evidence based route of administration of vaccines. **Human Vaccines**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 67-73, jan. 2008. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.4161/hv.4.1.4747>.
- [9] ASHOUR, Hossam M.; ELKHATIB, Walid F.; RAHMAN, Md. Masudur; ELSHABRAWY, Hatem A.. Insights into the Recent 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) in Light of Past Human Coronavirus Outbreaks. **Pathogens**, [s.l.], v. 9, n. 3, 4 mar. 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens9030186>.
- [10] GUO, Y. et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. **Military Medical Research**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 09-90, 13 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.

- [11] CHEN, Y.; LIU, Q.; GUO, D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. **Journal Of Medical Virology**, [s.l.], v. 92, n. 4, p. 418-423, 7 fev. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25681>.
- [12] ANDERSEN, K. G. et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 26, n. 4, p. 450-452, 17 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>.
- [13] KUMAR, S., MAURYA, V.K., PRASAD, A.K. et al. Structural, glycosylation and antigenic variation between 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) and SARS coronavirus (SARS-CoV). **VirusDis**. 31, 13–21 (2020). <https://doi.org/10.1007/s13337-020-00571-5>
- [14] LE, T.T. et al. The COVID-19 vaccine development landscape. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s.l.], v. 19, n. 5, p. 305-306, 9 abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/d41573-020-00073-5>.
- [15] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Draft landscape os COVID-19 candidate vacines. Geneva: WHO; 2020.
- [16] CALLAWAY, Ewen. The race for coronavirus vaccines: a graphical guide: a graphical guide. **Nature**, [s.l.], v. 580, n. 7805, p. 576-577, abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/d41586-020-01221-y>.
- [17] LU, S. Editorial overview: vaccines against challenging viral pathogens and new vaccine technology. : Vaccines against challenging viral pathogens and new vaccine technology. **Current Opinion In Virology**, [s.l.], v. 6, p. 8-9, jun. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2014.04.006>.
- [18] AMANAT, F. & KRAMMER, F. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. **Immunity**, [s.l.], v. 52, n. 4, p. 583-589, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2020.03.007>.
- [19] GRAHAM, B. S. Rapid COVID-19 vaccine development. **Science**, [s.l.], p. 1-2, 8 mai. 2020. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb8923>.
- [20] HOTEZ, P. J.; CORRY, D. B.; BOTTAZZI, M. E. COVID-19 vaccine design: the janus face of immune enhancement. : the Janus face of immune enhancement. **Nature Reviews Immunology**, 28 abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0323-4>.
- [21] KATZELNICK, L. C. et al. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans. **Science**, [s.l.], v. 358, n. 6365, p. 929-932, 2 nov. 2017. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.aan6836>.
- [22] FERGUSON, N.M. et al. Impact of non-pharmaceutical interventions (NPIs) to reduce COVID19 mortality and healthcare demand. **Imperial College London**, Londres, p. 1-20, 16 mar. 2020. <https://doi.org/10.25561/77482>.

- [23] BENOIT, A. et al. Hemagglutination Inhibition Antibody Titers as a Correlate of Protection Against Seasonal A/H3N2 Influenza Disease. **Open Forum Infectious Diseases**, [s.l.], v. 2, n. 2, 1 abr. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ofid/ofv067>.
- [24] BAO, L. et al.. The Pathogenicity of 2019 Novel Coronavirus in hACE2 Transgenic Mice. **bioRxiv**. <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.939389>.
- [25] CHEN, W.H.; HOTEZ, P. J.; BOTTAZZI, M. E. Potential for developing a SARS-CoV receptorbinding domain (RBD) recombinant protein as a heterologous human vaccine against coronavirus infectious disease (COVID)-19. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**. (2020). <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1740560>.
- [26] CURTIS, Nigel. BCG vaccination to protect healthcare professionals against COVID-19 (BRACE). 2020. Available at: <clinicaltrials.gov>. Accessed on: 27 may. 2020.
- [27] BONTEN, MJM. Reduced absenteeism of health workers in the covid-19 pandemics through the BCG vaccine (BCG-CORONA). 2020. Available at: <clinicaltrials.gov>. Accessed on: 29 dec. 2020. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04328441>
- [28] MEDIAVILLA, Daniel. the mystery of the old vaccine that seems to prevent covid-19. 2020. Available at: <El País>. Accessed on: 04 Dec. 2020. <https://brasil.elpais.com/ciencia/2020-05-04/o-misterio-da-velha-vacina-que-parece-prevenir-a-covid-19.html>

Maringá, 26 de junho de 2020.