

As vacinas para Covid-19 e suas tecnologias: potencial e perspectivas

COVID-19 vaccines and their technologies: potential and perspectives

Viviane Abreu Nunes¹
Felipe Santiago Chamberg¹
Milena Apetito Akamatsu²
Paulo Lee Ho²

1. Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo (EACH-USP).

2. Centro BioIndustrial, Instituto Butantan.

Resumo

Até dezembro de 2020 havia mais de 200 vacinas candidatas à prevenção da Covid-19 sendo desenvolvidas. Entre estas, pelo menos 52 já estão em fase de testes em humanos, enquanto outras, atualmente em fase I/II, devem entrar na fase III nos próximos meses. Considerando-se todas as vacinas que são estudadas in vitro e em animais de laboratório, cerca de 7 em cada 100 serão consideradas adequadas para início dos testes clínicos em humanos. Das vacinas que chegam aos ensaios clínicos, apenas uma em cinco é bem-sucedida. Ter muitas vacinas diferentes em desenvolvimento aumenta as chances de que haja uma ou mais bem-sucedidas e que se mostrem seguras e eficazes para as populações pretendidas. Existem diferentes abordagens para se projetar uma vacina. Suas diferenças residem no fato de usarem um vírus (ou bactéria) inteiro(a) ou apenas as partes do organismo que ativam o sistema imunológico (por exemplo, uma proteína), ou o material genético que fornece as instruções para a produção de proteínas específicas, capazes de estimular a resposta imune. Atualmente, outra modalidade tem sido proposta: uma vacina baseada no uso de células apresentadoras de antígeno. Nesse artigo, iremos apresentar e discutir as principais plataformas de produção de vacinas contra a Covid-19, em especial, das vacinas que estão aprovadas para uso comercial.

Palavras-chave

Covid-19. SARS-CoV-2. Proteínas virais. Antígenos. Vacinas.

Abstract

Since December 2020, there have been more than 200 vaccine candidates for COVID-19 under development. Among these, at least 52 are already undergoing human testing, while others, currently in phase I/II, are expected to enter phase III in the next months. In theory, of all vaccines that are studied in vitro and in laboratory animals, 7 out of 100 will be considered suitable for initial clinical tests in humans. Considering vaccines that reach clinical trials, probably only one in five will be successful. Development of many different vaccines increases the overall chance to produce safe and effective vaccines for the target populations. There are different approaches to vaccine design. Differences lie in the use of an entire virus (or bacterium); or parts of the organism that activate the immune system (e.g, a protein); or the genetic material that provides instructions for the production of specific proteins, capable of stimulating the immune response. Currently, another modality has been proposed: a vaccine based on the use of antigen presenting cells. In this article, we will present and discuss the main platforms used for the production of vaccines against COVID-19, in particular those approved for commercial use.

Keywords

COVID-19. SARS-CoV-2. Viral proteins. Antigens. Vaccines.

1. Introdução

Em dezembro de 2019, vários pacientes com pneumonia foram admitidos no hospital de Wuhan (Hubei, China). Esses casos foram relatados ao Centro de Controle de Doenças da China e, em 31/12/2019, autoridades de saúde chinesas informaram à Organização Mundial da Saúde (OMS) a existência de 27 casos de pneumonia de origem desconhecida (ZHU et al., 2020).

Em 3 de janeiro de 2020, o agente etiológico, obtido a partir de amostras do lavado broncoalveolar de um paciente de Wuhan, teve seu genoma sequenciado, sendo identificado como um novo vírus do gênero β coronavírus, o qual foi designado como 2019-nCoV (ZHU et al., 2020).

Nas semanas seguintes, a infecção se espalhou pela China e para outros países do mundo. Em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou o surto como uma Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional e nomeou a doença causada pelo novo coronavírus de Doença do Coronavírus 2019 (Covid-19), sendo o coronavírus 2 o agente etiológico da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2) (WHO, 2020a).

Em 26/02/2020, foi confirmado o primeiro caso de Covid-19 no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020), tendo o seu genoma sequenciado e disponível em 28 de fevereiro de 2020 (GOES DE JESUS et al., 2020). Em 11 de março de 2020, a OMS declarou a Covid-19 como uma pandemia (WHO, 2020b).

Atualmente, praticamente todos os países no mundo já relataram casos de Covid-19, o que representa uma séria crise de saúde pública mundial (WHO, 2020c). Estudos revelaram que a pneumonia é uma das complicações mais comuns após a infecção por SARS-CoV-2, seguida pela Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) (HUANG et al., 2020). Além do risco de morte que varia entre as faixas etárias, existe a necessidade de uso de leito e respiradores nos casos mais graves, saturando o sistema de atendimento hospitalar do país e do mundo. Existe, assim, a necessidade urgente de tratamento eficaz e redução da crescente mortalidade relacionada à Covid-19. O foco atual tem sido o desenvolvimento de novas terapêuticas, incluindo antivirais, vacinas e, obviamente, o aprimoramento da nossa capacidade de diagnosticar correta e eficazmente a doença.

2. SARS-CoV-2 e vacinas

SARS-CoV-2 é o agente etiológico responsável pelo surto pandêmico atual de Covid-19 (ZHOU et al., 2020; ZHU et al., 2020). Como outros coronavírus, o SARS-CoV-2 é um vírus envelopado com um genoma de RNA fita simples de sentido positivo com aproximadamente 30 kb (FUNG e LIU, 2019; SCHOEMAN e FIELDING, 2019). O SARS-CoV-2 pertence ao gênero β coronavírus, juntamente com o SARS-CoV e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV), com 80 e 50% de similaridade, respectivamente (CHEN et al., 2020; ZHOU et al., 2020). Acredita-se que os coronavírus (CoV) causem, principalmente, infecções enzoóticas em pássaros e mamíferos. Eles podem infectar, principalmente, o trato respiratório e intestinal de diferentes espécies, causando uma ampla gama de sintomas (DHAMA et al., 2020). No entanto, os surtos recorrentes de SARS, MERS e, agora, da Covid-19, demonstraram a capacidade dos CoVs de cruzar as barreiras das espécies, incluindo a transmissão para e entre os humanos (MENACHERY et al., 2017).

Os CoVs carregam os maiores genomas (26-32 kb) entre todas as famílias de vírus de RNA (Figura 1). Após a entrada na célula, o RNA genômico é traduzido para produzir proteínas não estruturais (nsp) a partir de duas fases de leitura aberta (ORF) distintas, ORF1a e ORF1b. A ORF1a codifica para o polipeptídeo 1a (pp1a, 440-500 kDa) que é clivado em 11 nsp. Já a tradução contínua da ORF1ab produz outro polipeptídeo (pp1ab, 740-810 kDa) que é clivado em 15 nsp. A clivagem proteolítica é mediada pelas proteases virais nsp3 e nsp5, que abrigam um domínio de protease semelhante à papaína e um domínio de protease semelhante à 3C (3C-like protease, 3CL^{Pro}), respectivamente.

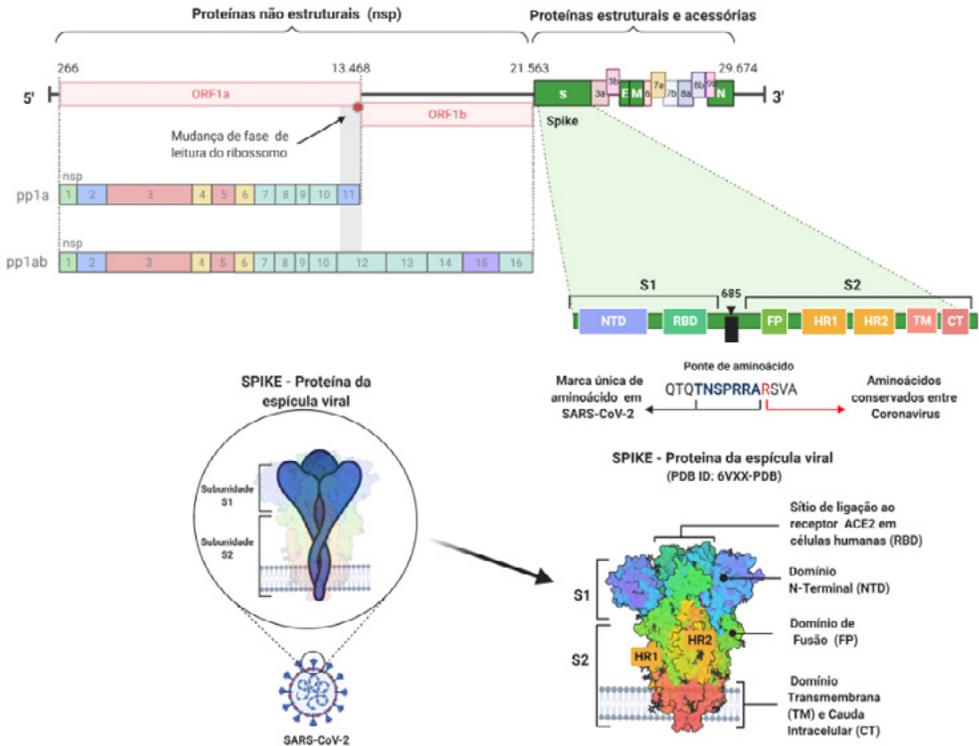


Figura 1

Representação esquemática do genoma do SARS-CoV-2

A proteína Spike (S) é a principal proteína viral que participa da ligação ao receptor celular ECA2 (Enzima Conversora de Angiotensina 2). Monômeros da proteína S formam uma estrutura homotrimérica que pode se apresentar na forma pré-fusão ou pós-fusão. A forma pré-fusão é a forma ativa que reconhece o receptor celular ECA2 e é a forma imunogênica desejada na formulação de vacinas. A forma pós-fusão é adotada principalmente após a entrada do vírus na célula e os anticorpos dirigidos a esta forma não tem atividade neutralizante no geral. A Figura também mostra em detalhes a estrutura modular da proteína S. O domínio da proteína S responsável pela ligação ao receptor celular é conhecido como domínio RBD (Receptor Binding Domain). O domínio TM é responsável pela inserção da proteína S na membrana celular que dará origem ao vírus. Fonte: elaborado pelos autores (2021). Figura criado com o auxílio do programa BioRender.com (2020, <https://app.biorender.com/biorender-templates>).

O genoma viral também codifica as proteínas envolvidas na replicação e transcrição, mediada pela nsp12, a qual apresenta atividade de RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) (SNIJDER et al., 2016; SOLA et al., 2015). O RNA genômico (gRNA) é empacotado pelas proteínas estruturais para gerar a progênie de vírions, enquanto os RNA subgenômicos (sgRNA) codificam proteínas estruturais conservadas como a proteína Spike (S), a de envelope (E), a de membrana (M) e a de nucleocapsídeo (N), além de várias outras proteínas acessórias.

A entrada do coronavírus nas células hospedeiras é mediada pela glicoproteína transmembrana Spike (S), com 1273 aminoácidos, a qual forma homotrímeros que se projetam da superfície viral resultando na aparência de coroa ou corona (TORTORICI e VEESLER, 2019). A proteína S e seus vários domínios são apresentados na Figura 1. A proteína S compreende duas subunidades funcionais responsáveis pela ligação ao receptor da célula hospedeira (subunidade S1) e pela fusão das membranas viral e celular (subunidade S2). A subunidade S1 distal compreende o(s) domínio(s) de ligação ao receptor e contribui para a estabilização do estado de pré-fusão da subunidade S2 ancorada na membrana que contém a maquinaria envolvida na fusão (PALLESEN et al., 2017; SONG et al., 2018; YUAN et al., 2017). Para todos os CoV, a proteína S é, ainda, clivada por proteases do hospedeiro no denominado sítio S2' localizado imediatamente a montante do peptídeo de fusão (MADU et al., 2009; MILLET e WHITTAKER, 2015). Esta clivagem é fundamental na ativação da proteína para a fusão da membrana por meio de mudanças conformacionais irreversíveis (MILLET e WHITTAKER, 2015; PARK et al., 2016). Como resultado, a entrada do coronavírus nas células é um processo complexo que requer a ação combinada da ligação ao receptor e processamento proteolítico da proteína S para promover a fusão vírus-célula.

Como a glicoproteína S é exposta na superfície do coronavírus e promove a entrada do vírus nas células hospedeiras, esta é o principal alvo dos anticorpos neutralizantes após a infecção, sendo o foco de propostas terapêuticas e de vacinas (KUBA et al., 2005; WALLS et al., 2020; WRAPP et al., 2020; YAN et al., 2020). Dessa maneira, várias versões da proteína S de SARS-CoV-2 e de seus domínios, como o RBD, responsável pela ligação

ao receptor celular da proteína S, estão em avaliação como candidatas a vacinas usando-se diferentes estratégias (AMANAT e KRAMMER, 2020). No entanto, o conhecimento sobre o repertório de anticorpos ou a qualidade da resposta imune gerada após a vacinação por diferentes antígenos baseados nesta proteína ainda é limitado (AMANAT e KRAMMER, 2020), assim como o dos marcadores imunológicos associados ao benefício clínico, o que facilitaria a avaliação da efetividade das vacinas candidatas.

3. Resposta imunológica e SARS-CoV-2

É bem conhecido que a resposta imune humoral é o efetor primário crítico para imunidade protetora em infecções virais naturais e após a administração de vacinas. No caso da Covid-19, a soroconversão, na maioria das pessoas infectadas, ocorre entre 7 e 14 dias após o início dos sintomas, começando com a detecção de anticorpos IgM e IgA (que podem ser detectados precocemente, desde a primeira semana até 3 semanas após o início dos sintomas), seguido pela detecção de IgG, por volta de 14 dias após o início dos sintomas (GUO et al., 2020; THEEL et al., 2020; WU et al., 2020). O aumento nos níveis de anticorpos também é acompanhado pelo aumento de células T CD4+/CD8+ ativadas, além de células de memória IgG específicas (JU et al., 2020). Da mesma forma, a prevenção de reinfecção em macacos *rhesus* infectados com SARS-CoV-2 correlacionou-se ao aumento no título de anticorpos em animais recuperados (BAO et al., 2020). Paralelamente, vários estudos com pacientes infectados mostraram a presença de IgA sérica contra SARS-CoV-2 com potencial de neutralização (GUO et al., 2020; PATEL et al., 2020), conforme demonstrado em ensaios pré-clínicos com vacinas candidatas para SARS-CoV (LU et al., 2010; SHIM et al. 2012).

Em geral, anticorpos contra as proteínas N e S são comumente detectados na maioria dos pacientes testados com Covid-19, entre os quais contra o domínio RBD da proteína S (TO et al., 2020; WU et al., 2020). É importante ressaltar que nenhum anticorpo detectado no plasma de pacientes com Covid-19, nem anticorpos monoclonais neutralizantes específicos para o domínio

RBD de SARS-CoV-2, mostraram reatividade cruzada com SARS-CoV ou MERS-CoV. Assim, em conjunto, pode-se concluir que S1 e, particularmente RBD, podem ser considerados candidatos a antígenos em formulações de vacinas para induzir a produção de anticorpos específicos para prevenir a infecção por SARS-CoV-2.

Conforme mencionado, a resposta humoral é o efetor primário da imunidade protetora contra infecções virais, embora as respostas de células T pareçam desempenhar função essencial na eliminação de vários vírus. Com relação à Covid-19, em casos graves é verificada a ocorrência de linfocitopenia (declínio na quantidade de linfócitos) e níveis diminuídos de células B circulantes, células *natural killer* (NK), eosinófilos e basófilos (DIAO et al., 2020; SUN et al., 2020; WAN et al., 2020). Além disso, a maioria dos casos graves de Covid-19 (especialmente em pacientes em unidades de terapia intensiva) exibiu níveis séricos de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias – como IL-6, IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-17, G-CSF, GM-CSF, IP-10, MCP-1, CCL3 e TNF α – muito aumentados ("tempestade de citocinas"), o que se correlacionou ao número reduzido de células T e à gravidade da doença (HUANG et al., 2020).

Essa "tempestade de citocinas" representa uma reação de hipersensibilidade (HSR) na qual ocorre a ativação de várias células do sistema imune (BUONAGURO et al., 2020). Níveis elevados de algumas citocinas pró-inflamatórias, como MCP-1, TGF- β 1, TNF- α , IL-1 β e IL-6, produzidas por células infectadas por SARS-CoV, estão associadas à lesão pulmonar aguda (LPA). Similarmente, na infecção viral por influenza A H5N1, citocinas inflamatórias, como IL-1 β , IL-8 e IL-6, desempenham importante função na mediação e amplificação da Injúria Aguda no Pulmão (ALI, *Acute Lung Injury*). Outros estudos também mostraram que pacientes infectados com H7N9 têm níveis significativamente mais elevados de citocinas, como IL-6, IP-10, IL-10, IFN- γ e TNF- α , em comparação a voluntários saudáveis.

Especificamente para SARS-CoV, já foi reportado que a resposta de células T contra as proteínas S e N foram as mais importantes e de longa duração (CHANNAPPANAVAR et al., 2014; FAN et al., 2009; LI et al., 2008; PENG et al., 2006; TANG et al., 2011). Com relação ao SARS-CoV-2, dados mostraram que 50%

do total de respostas de células T CD4⁺ foram contra a proteína S, enquanto células T CD8⁺ específicas contra a proteína S também foram encontradas na maioria, senão em todos os casos estudados (GRIFONI et al., 2020; LI et al., 2020). Em outro estudo, 13 dos 14 pacientes recuperados da Covid-19 mostraram forte correlação entre os títulos de anticorpos neutralizantes e o número de células T específicas (NI et al., 2020). Essas respostas celulares foram direcionadas, principalmente, para linfócitos Th1, embora citocinas específicas de Th2 e Th17 também tenham sido encontradas. Além disso, baixos níveis de células T específicas foram encontrados em 20% dos indivíduos não expostos, o que poderia indicar reatividade cruzada de células T para SARS-CoV-2 e outros coronavírus causadores de resfriado comum (WEISKOPF et al., 2020). Paralelamente, resultados de um estudo de coorte indicaram a presença de células T CD4⁺ e CD8⁺ específicas para SARS-CoV-2 com alta atividade citotóxica na fase aguda da doença (especialmente para a proteína S), reforçando o papel da resposta celular quando se avaliam as estratégias para uma vacina potencial contra SARS-CoV-2, principalmente considerando-se uma resposta mais duradoura (SEKINE et al., 2020).

4. Pensando em uma vacina contra a Covid-19

Todas as vacinas têm como objetivo apresentar ao organismo um antígeno (o patógeno ou parte dele) que não cause doença, mas que provoque uma resposta imunológica que possa bloquear ou eliminar o patógeno quando a pessoa for infectada. Assim, independentemente da plataforma de desenvolvimento e administração, deve ser selecionado o mais potente e específico antígeno que seja prontamente reconhecido pelo sistema imunológico.

Em seguida, são apresentadas as principais estratégias que têm fundamentado a formulação de vacinas contra o SARS-CoV-2.

4.1. Vacinas baseadas em vírus

Nesta plataforma, o antígeno é constituído pelo vírus SARS-CoV-2 inteiro nativo (ou selvagem) e a vacina pode ser atenuada ou inativada.

4.1.1. Vacinas de vírus atenuado

Na modalidade de vacina atenuada, o vírus retém a capacidade de se replicar na célula hospedeira, porém, de forma limitada para produzir imunidade, sem causar a doença. O vírus presente na vacina pode ser atenuado ou enfraquecido em laboratório por meio de sucessivas passagens em meio de cultura.

A Codagenix/Serum Institute (Índia) deu início à fase 1 do ensaio clínico da COVI-VAC, uma vacina atenuada de dose única, intranasal, contra SARS-CoV-2. COVI-VAC foi desenvolvida com a plataforma *Synthetic Attenuated Virus Engineering* (SAVE) da Codagenix, que usa biologia sintética para codificar os genes dos vírus e, assim, obter vacinas seguras e estáveis. COVI-VAC foi projetada para fornecer uma versão atenuada e segura do SARS-CoV-2 capaz de induzir resposta imune mais robusta e imunidade celular de longa duração contra o SARS-CoV-2, mimetizando uma infecção natural (<https://www.prnewswire.com>).

4.1.2. Vacinas de vírus inativado

O vírus inteiro é produzido em culturas de células permissivas e qualificadas, como as células VERO. Em seguida, é purificado, inativado por calor e/ou produtos químicos (geralmente, formalina ou β -propiolactona). Assim, o vírus não pode replicar e causar doenças. Este tipo de vacina requer, em geral, a aplicação de múltiplas doses. Atualmente, 10 vacinas que estão sendo desenvolvidas utilizam esta plataforma e 4 delas já foram aprovadas por algum país: Covaxin (BBV152, Bharat Biotech), IBP-CorV (Sinopharm, Beijing), Inactivated (Sinopharm, Wuhan) e CoronaVac (Sinovac, Beijing).

COVAXIN (BBV152) utiliza a cepa NIV-2020-770 (isolada na Índia) que apresenta a mutação Asp614Gly na proteína S e é replicada em células VERO e inativada com β -propiolactona (ELLA et al., 2021); CoronaVac utiliza a cepa CZ02, é replicada em células VERO e inativada com formalina, tendo o hidróxido de alumínio como adjuvante. Essa vacina está sendo usada na imunização da população brasileira desde 17 de janeiro de 2021 (BELETE, 2021; PALÁCIOS et al., 2020).

Resultados de estudos anteriores em animais com vacinas de primeira geração, usando o vírus inteiro atenuado ou inativado, contra SARS-CoV (BOLLES et al., 2011; PADRON-REGALADO, 2020; TSENG et al., 2012) ou MERS-CoV (AGRAWAL et al., 2016; HOUSER et al., 2017; LAMBERT et al., 2020) indicaram a possibilidade de efeitos adversos, como aumento da infecciosidade e imunopotentiação (na forma de infiltração eosinofílica) e/ou aumento da infecção dependente de anticorpos (ADE, antibody-dependent enhancement) em animais imunizados.

A ADE, às vezes menos precisamente chamada de intensificação imunológica ou intensificação da doença, é um fenômeno no qual a ligação de um vírus a anticorpos subótimos aumenta sua entrada nas células hospedeiras, seguida por sua replicação (TIRADO e YOON, 2003).

Considerando que tanto o SARS-CoV-2 quanto o SARS-CoV compartilham alto grau de identidade genética e patológica, é razoável pensar que uma vacina contra o SARS-CoV-2 baseada em vírus também possa induzir os mesmos efeitos adversos. Portanto, o desenvolvimento de vacinas mais seguras de segunda e terceira geração (por meio de plataformas de vacinas modernas) usando uma proteína viral adequada como antígeno é pesquisada para prevenir ou diminuir a infecção por SARS-CoV-2, mediada por anticorpos subótimos, ainda que o mesmo fenômeno de ADE possa não ser evitado em função da biologia, diversidade e evolução dos β coronavírus.

4.2. Vacina de vetor viral

Nesta plataforma, o antígeno é constituído por um componente do vírus patógeno SARS-CoV-2 que está inserido em um outro vírus que funciona como veículo de transporte (vetor). O vetor viral pode ser replicante (por exemplo, o vírus do sarampo e o vírus da estomatite vesicular) ou não replicante (como adenovírus (Ad) e poxvírus). Várias vacinas em desenvolvimento utilizam o vetor Ad não replicante, fundamentalmente, por ser seguro física e geneticamente estável, além de não se integrar ao genoma do hospedeiro, infectando células dendríticas e outros tipos celulares. Contudo, para induzir a resposta imune do hospedeiro são necessárias doses mais altas em relação a uma vacina baseada em vetor viral replicante

(BELETE, 2021). No desenvolvimento da vacina contra o SARS-CoV-2, os vetores mais comumente usados são os adenovírus ChAdOx, adenovírus tipo 5 e adenovírus tipo 26, mas lentivírus, entre outros vírus, também podem ser usados (STRIZOVA et al., 2021).

Adenovírus não replicantes apresentam defeito de replicação devido à deleção de genes, principalmente da região E1, essenciais para a replicação, permitindo a inserção de um cassete de expressão sob o controle de um promotor exógeno (ROBERT-GUROFF, 2007). Para a produção deste vírus, utilizam-se linhagens celulares que expressam a proteína E1 do adenovírus integrados no genoma celular, complementando a falta desta proteína nos adenovírus não replicantes (defectivos). Para maior segurança do sistema, outras deleções podem ser realizadas nos genomas do Ad (por exemplo, E2A, E2B, E3, E4 e E5) e, em geral, são usados Ad com mais de um gene deletado (**Figura 2**). Atualmente, 12 vacinas estão sendo desenvolvidas utilizando a plataforma de vetor viral não replicante e 5 vacinas já foram aprovadas por algum país: Ad5-nCoV (Cansino), Sputnik V (Gamaleya), Ad26.COV2.S (Janssen - Johnson & Johnson), AZD1222 (Oxford/AstraZeneca) e Covishield (Serum Institute, Índia).

AZD1222 é uma vacina que utiliza o adenovírus símio não replicante ChAdOx1 nCoV-19, que carrega o gene que codifica para a proteína S de SARS-CoV-2 (VAN DOREMALEN et al., 2020). É a vacina de menor custo dentre as vacinas aprovadas (2-3 US\$) e está sendo usada no Brasil para a imunização da população desde 23 de janeiro de 2021; Ad5-nCoV utiliza o adenovírus não replicante tipo-5 (Ad5) que também contém o gene que codifica para a proteína S de SARS-CoV-2 (KAUR e GUPTA, 2020); já a Sputnik V é uma vacina que emprega dois adenovírus, Ad26 e Ad5, ambos construídos para a expressão da proteína S de SARS-CoV-2 (rAd26-S e rAd5-S) (LOGUNOV et al., 2020); Ad26.COV2.S utiliza o adenovírus Ad26 para expressão da proteína S de SARS-CoV-2 (BOS et al., 2020) e, finalmente, a Covishield apresenta a mesma formulação da vacina da Oxford/AstraZeneca (AZD1222), produzida pelo Serum Institute (Índia).

Por não serem replicantes quando aplicados nos pacientes, a quantidade de vírus injetada é grande, da ordem de 5×10^{10} a 10^{11} partículas virais em volume de 0,5 ml (5×10^{10} , vacina da Oxford/AstraZeneca, Janssen; 10^{11} , vacina Sputnik V). Em geral, o esquema de vacinação é de 2 doses, em intervalos de semanas a meses entre as aplicações a depender da vacina.

Na modalidade de vacina baseada em vetor replicante, o vírus infecta as células, nas quais o antígeno será produzido e, assim, novas partículas virais são produzidas, as quais infectam novas células, aumentando a produção do antígeno. Em geral, para segurança do paciente são usados vírus vacinais como base de vetor replicante. Como exemplo destas vacinas em desenvolvimento, temos: 1) V591-001- Measles-vector based, TMV-038 (Merck & Co. + Themis + Sharp & Dohme + Institute Pasteur + University of Pittsburgh); 2) DeINS1-2019-nCoV-RBD-OPT1 (Intranasal flu-based-RBD) (University of Hong Kong, Xiamen University and Beijing Wantai Biological Pharmacy); 3) rVSV-SARS-CoV-2-S Vaccine (Israel Institute for Biological Research); 4) AdCLD-CoV19 (adenovirus vector) (Cellid Co., Ltd.); 5) NDV-HXP-S, Newcastle disease virus (NDV) expressando a proteína S de SARS-CoV-2 (Consórcio Institute of Vaccines and Medical Biologicals (IVAC, Vietnam); The Government Pharmaceutical Organization (GPO, Tailândia); Instituto Butantan (Brasil); Icahn School of Medicine at Mount Sinai (Estados Unidos). No caso do NDV, os vírus vacinais podem ser produzidos usando ovos embrionados e purificados de forma muito similar àquela usada na produção da vacina da influenza sazonal. De fato, apesar da possibilidade de uso do NDV íntegro, os vírus purificados são inativados e usados como antígeno vacinal, representando uma grande esperança para a autossuficiência de vacinas para a Covid-19 no Brasil. No entanto, nenhuma destas vacinas têm aprovação para uso e estão em diferentes estágios de desenvolvimento e estudos clínicos.

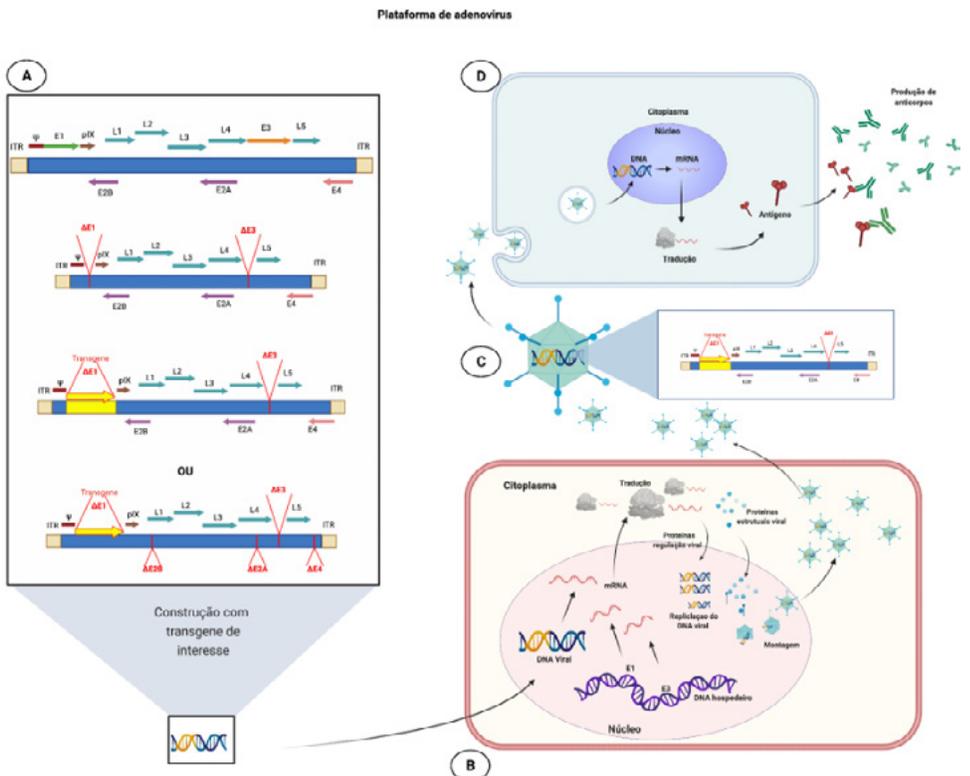
4.3. Vacinas de ácidos nucleicos

O primeiro relato de expressão de proteínas em camundongos *in vivo*, após administração de ácidos nucleicos codificadores (DNA ou RNA) (WOLFF et al., 1990), mostrou

o potencial de uso dessas moléculas para codificar antígenos como forma de vacinação. O antígeno codificado pelo ácido nucleico após seu ingresso e expressão em células alvo pode desencadear resposta imune humoral e celular. As células que têm o DNA ou RNA introduzido produzem o antígeno de modo semelhante àquele que é produzido durante a infecção, com as modificações pós-tradução, como a glicosilação, com grande fidelidade (PIYUSH et al., 2019).

A tecnologia de vacinação baseada em ácido nucleico se mostra versátil e flexível, permite fácil manipulação do antígeno e é de rápida produção para provas de conceito, sendo considerada uma tecnologia do tipo *plug and play*. O processo de produção será sempre o mesmo, independentemente do antígeno a ser expresso e, por isto, é considerada uma tecnologia de resposta rápida. Atualmente, várias empresas estão desenvolvendo vacinas de ácidos nucleicos.

Figura 2
Vacina usando a plataforma de adenovírus



(A) Esquema do genoma do adenovírus. O Adenovírus infecta a célula e o seu material chega até o núcleo. Existem genes que são precocemente expressos (genes E, Early genes) e dão origem a proteínas não estruturais envolvidas na replicação e transcrição de genes virais. A seguir, são expressos tardiamente uma outra classe de genes (genes L, Late genes) que tem uma função estrutural, participando na formação da partícula viral que ocorre no núcleo. Tanto as proteínas dos genes E como dos genes L produzidos no citoplasma retornam ao núcleo onde atuam. Assim, a deleção de 1 ou mais genes E impossibilita a produção de um adenovírus replicante. Para isto, usam-se células que foram transfectadas com estes genes (no exemplo, tem-se o gene E1 e E3 integrados (B) no genoma da célula), possibilitando a produção de partículas virais infectantes, mas não replicativas quando inoculadas no indivíduo. No lugar dos genes deletados, especialmente no gene E1, introduz-se o transgene (C) codificando para o antígeno de interesse. O vírus recombinante com o transgene é capaz de infectar as células e produzir o antígeno desejado, mas incapaz de replicar e produzir vírus ativos. Os antígenos produzidos são secretados e reconhecidos por anticorpos estimulando o sistema imune do indivíduo (D). Fonte: elaborado pelos autores (2021) e parcialmente adaptado de SAYEDAHMED et al. (2020). Figura criada utilizando o programa BioRender.com (2020).

4.3.1. Vacina de DNA

A vacina de DNA é constituída por genes ou fragmentos deles, que codificam antígenos imunogênicos que são introduzidos no interior das células do hospedeiro, usando-se plasmídeos de DNA como vetores (Figura 3). A formulação da vacina é feita de forma que o material genético é internalizado pela célula e o plasmídeo é translocado para o núcleo, onde o promotor de mamífero presente na estrutura do vetor é ativado. Ocorre, então, a transcrição do gene codificando o antígeno no núcleo e a tradução do respectivo RNAm acontece no citoplasma, produzindo o antígeno da vacina (SILVEIRA et al., 2021).

Atualmente, existem dez vacinas de DNA contra Covid-19 em diferentes estágios clínicos de desenvolvimento pelos seguintes laboratórios (WHO, 2021): 1) Inovio Pharmaceuticals + International Vaccine Institute + Advaccine (Suzhou) Biopharmaceutical Co.Ltd (INO-4800); 2) AnGes + Takara Bio + Osaka University (AG0301-COVID19); 3) Zydus Cadila (nCov vaccine); 4) Genexine Consortium (GX-19); 5) Entos Pharmaceuticals Inc. (Covigenix VAX-001 - DNA vaccines + proteo-lipid vehicle (PLV) formulation); 6) Providence Health & Services (CORVax - Spike (S) Protein Plasmid DNA Vaccine); 7) Symvivo Corporation (bacTRL-Spike oral DNA vaccine); 8) GeneOne Life Science, Inc.(GLS-5310); 9) University of Sydney, Bionet Co., Ltd, Technovalia (COVIGEN); 10) Takis + Rottapharm Biotech (COVID-eVax).

A vacina INO-4800 (Inovio Pharmaceuticals) apresenta o plasmídeo pGX9501, que expressa a sequência sintética total e otimizada da proteína S de SARS-CoV-2 da cepa Wuhan. A vacina deve ser aplicada por eletroporação usando-se o dispositivo CELLECTRA® 2.000 (TEBAS et al., 2021).

4.3.2. Vacina de RNAm

A vacina de RNAm é uma vacina emergente, não infecciosa, com baixo risco de mutagênese por inserção, sendo uma alternativa promissora devido ao seu custo e perfil de segurança em estudos com animais (BELETE, 2021). A imunogenicidade do RNAm pode ser minimizada e alterações podem aumentar a estabilidade dessas vacinas.

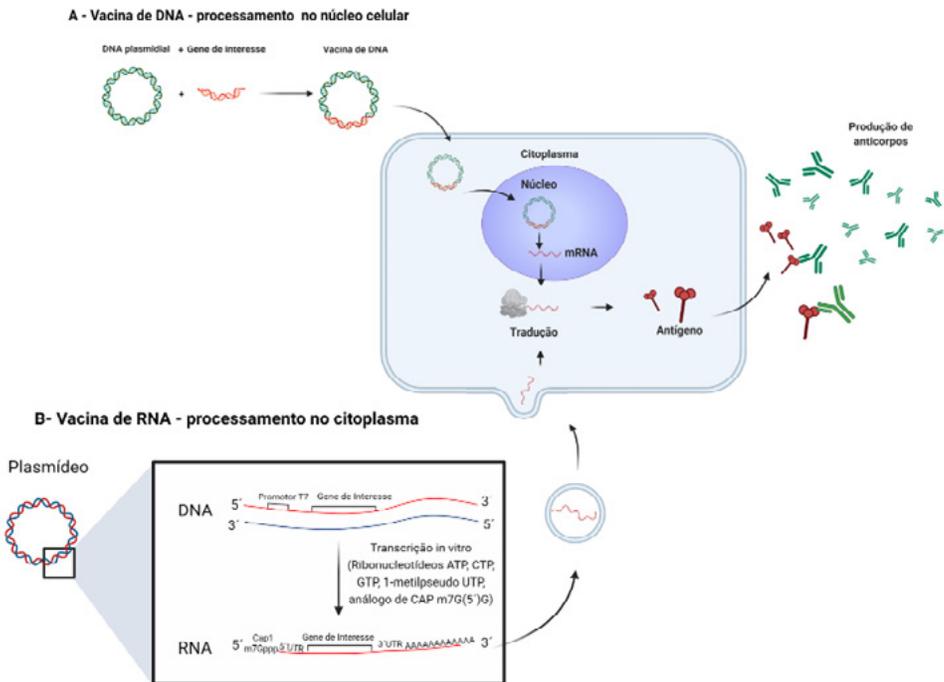


Figura 3
O gene codificando o antígeno de interesse é clonado em um plasmídeo para ser produzido em quantidades

No caso de vacina de DNA (A), o gene de interesse deve estar sob o controle de um promotor eucariótico. Em geral, se utilizam promotores virais fortes, como o promotor de CMV (citomegalovírus), mas outros promotores podem ser utilizados. Usam-se sequências para terminação da transcrição logo após a sequência de interesse e sinais de poliadenilação. O RNAm expresso migra para o citoplasma, onde é traduzido pela maquinaria de tradução no antígeno desejado que, por ter uma sequência sinal, é secretado para o meio extracelular. O antígeno secretado é, assim, reconhecido por células apresentadoras de antígenos e linfócitos B (não mostrado), estimulando a produção de anticorpos por linfócitos B ativados (plasmoblastos) que reconhecem o antígeno específico em questão. No caso da vacina de RNAm (B), é feita a transcrição in vitro da construção plasmidial, produzindo o RNAm que é formulado em liponanoestruturas que são internalizadas pelas células. O RNAm introduzido é traduzido no citoplasma da célula para a produção do antígeno que é secretado e reconhecido por linfócitos B e anticorpos produzidos por linfócitos B ativados (plasmoblastos). Fonte: elaborado pelos autores (2021). Figura criada com o auxílio do programa BioRender.com (2020).

A produção do RNAm é a etapa intermediária entre a transcrição do DNA e a sua tradução em proteína pelos ribossomos no citoplasma. Dois tipos principais de RNA são atualmente estudados para a finalidade de vacinas: RNAm não replicante (Figura 2) e RNA autorreplicante derivado de vírus.

As vacinas de RNAm não replicante codificam o antígeno de interesse e contêm regiões 5' e 3' não traduzidas (UTR), estrutura CAP na extremidade 5' (resíduo de metil guanosina trifosfato ligada por ligação 5'-5' na extremidade 5' do RNAm) e cauda de PoliA+, de forma similar à de um RNAm maduro. Já os RNA de autor-replicação codificam não apenas o antígeno, mas também a maquinaria de replicação viral de alfa vírus, que permite a amplificação do RNA intracelularmente e a expressão abundante de proteínas (BLOOM et al., 2020; KAUR e GUPTA 2020; PARDI et al., 2018). A página da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2021) mostra 10 vacinas de RNAm contra Covid-19 em estágio de desenvolvimento clínico pelos seguintes desenvolvedores: Moderna + National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) (RNAm -1273 e RNAm-1273.351 com a proteína S da variante SARS-CoV-2 B.1.351), Pfizer/BioNTech + Fosun Pharma (BNT162), CureVac AG (CVnCoV Vaccine), Arcturus Therapeutics (ARCT-021), Imperial College London (LNP-nCoVsaRNA), Academy of Military Science (AMS), Walvax Biotechnology and Suzhou Abogen Biosciences (ARCoV), Chulalongkorn University (ChulaCov19 mRNA vaccine), Providence Therapeutics (PTX-COVID19-B, mRNA vaccine) e GlaxoSmithKline (CoV2 SAM (LNP) vaccine).

A vacina mRNA-1273 (Moderna TX, Inc) é composta por RNAm sintético, que codifica a proteína S completa de SARS-CoV-2, encapsulado em nanopartículas de lipídios (LNP). Deve ser aplicada por via intramuscular, em duas doses, no intervalo de 1 mês. A vacina contém os seguintes componentes: 100 µg de RNAm, lipídios (SM-102, polietileno glicol [PEG] 2000 dimiristoil glicerol [DMG], colesterol, e 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina [DSPC], trometamina, cloridrato de trometamina, ácido acético, acetato de sódio e sacarose (<https://www.fda.gov/>).

Já a vacina BNT162b1 (BioNTech| FosunPharma| Pfizer) é derivada de RNAm, com otimização de códon, e

codifica para o domínio de ligação ao receptor da proteína S de SARS-CoV-2. O RNAm é encapsulado em nanopartículas lipídicas catiônicas ionizáveis de 80 nm e a vacina deve ser aplicada por via intramuscular, em duas doses, no intervalo de 3 semanas. A vacina contém os seguintes componentes: 100 µg RNAm, lipídios [(4-hidroxi-butil) azanedi]bis(hexano-6,1-diil)bis(2-hexildecanoato), 2 (polietilenoglicol)-2000-N,N-ditetradecilacetamida, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfolina e colesterol], cloreto de potássio, fosfato de potássio monobásico, cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico di-hidratado e sacarose.

Curiosamente, apesar de eficácia de 95% e segura, têm sido relatados efeitos adversos relevantes associados ao uso destas vacinas de RNAm, como dores musculares, nos ossos e febres altas. No entanto, isso ocorre em frequência menor do que 2% dos vacinados, o que parece estar associado à sensibilidade ao polietilenoglicol (PEG) presente na formulação das vacinas da Moderna e Pfizer/BioNTech (WADMAN, 2020).

4.4. Subunidades de proteínas virais

Uma vacina de subunidade é aquela que utiliza peptídeos sintéticos ou proteínas antigênicas recombinantes para estimular a resposta imune protetora. Este tipo de vacina contém, principalmente, fragmentos antigênicos virais específicos, mas sem incluir qualquer componente tóxico do patógeno infeccioso. Este tipo de vacina exibe baixa imunogenicidade e requer auxílio de um adjuvante para potencializar a resposta imune (WANG et al., 2020).

Como já mencionado, a proteína S do SARS-CoV-2 tem se mostrado o antígeno mais adequado para induzir a produção de anticorpos neutralizantes protetores para bloquear a ligação dos vírus ao seu respectivo receptor e, assim, inibir a infecção viral (KUBA et al., 2005; WALLS et al., 2020; WRAPP et al., 2020; YAN et al., 2020). Tanto a proteína S total ou seus fragmentos, como a subunidade S1, NTD, RBD e subunidade S2, podem servir como alvos importantes para o desenvolvimento de vacinas (KAUR e GUPTA, 2020; WANG et al., 2020). Estudos têm demonstrado que as proteínas N e M também induzem resposta de anticorpos em animais imunizados (WANG et al., 2020). No entanto, estas vacinas baseadas nas proteínas N e M

não inibem a infecção celular, pois não tem a capacidade de bloquear a ligação do vírus ao receptor celular ECA2 (Enzima conversora de angiotensina 2).

Partícula similar a vírus (Virus Like Particles, VLP) é uma plataforma para o desenvolvimento de vacinas, sendo estruturas poliméricas que podem estimular diretamente as células do sistema imunológico imitando a conformação tridimensional dos vírus nativos. São formadas pelo antígeno viral produzido na forma recombinante com capacidade de se organizar estruturalmente em VLP. São desprovidas de material genético infeccioso e contêm proteínas virais funcionais responsáveis pela entrada eficiente na célula, sendo um sistema de entrega que combina segurança e forte imunogenicidade (GHORBANI et al., 2020). As VLP podem apresentar antígenos na superfície que são captados por células apresentadoras de antígenos profissionais, levando à indução de forte resposta imune humoral e celular (KUSHNIR et al., 2012).

A OMS (WHO, 2021) mostra 27 vacinas de subunidade de proteína e 3 de VLP em diferentes estágios de desenvolvimento clínico por diversos laboratórios.

NVX-CoV2373 (Novavax, Inc./Emergent BioSolutions) é uma vacina que utiliza tecnologia de nanopartículas e contém o antígeno proteico S purificado de SARS-CoV-2 com o adjuvante de Matrix-M™, um composto nanoestruturado de 40 nm que tem como base saponina, patenteado por Novavax para aumentar a resposta imune e estimular a produção de altos níveis de anticorpos neutralizantes (<https://ir.novavax.com/>, acesso em 13/03/2021).

A vacina VBI-2902a (VBI Vaccines Inc) utiliza uma plataforma VLP com envoltório (eVLP) contendo a proteína S de SARS-CoV-2 e fosfato de alumínio como adjuvante (<https://www.vbivaccines.com>, acesso em 13/03/2021).

Denominada Versamune®-CoV-2FC, a vacina é a combinação da proteína recombinante S1 do SARS-CoV-2 desenvolvida pela Farmacore (empresa de biotecnologia instalada no Centro de Negócios do Supera Parque em Ribeirão Preto, SP) associada ao carreador Versamune® da PDS Biotech, uma tecnologia patenteada para a ativação do sistema imunológico. Versamune® é constituído por R-enantiômero de 1,2-dioleoil-e-trimetil-amônio-propano (R-DOTAP), um lipídio catiônico. O lipídio se agrega espontaneamente em nanopartículas em um meio aquoso

e adquire o tamanho de um vírus artificial, promovendo a captação eficiente pelas células dendríticas (<https://www.pdsbiotech.com/>).

Outras plataformas

Com o avanço da engenharia genética e o desenvolvimento de novas tecnologias, diferentes plataformas estão sendo propostas. Nesse contexto, destaca-se o uso de células dendríticas (CD) como um alvo imunoterapêutico por serem potentes células apresentadoras de antígenos (APC) e por ativarem o sistema imunológico (PEREZ e DE PALMA, 2019; SABADO et al., 2017). Tais características têm permitido o desenvolvimento de células apresentadoras de antígenos artificiais (aAPC), em que células imortalizadas são transduzidas com lentivírus para imitar efetivamente uma APC, como é o caso da COVID-19/aAPC.

Particularmente, vacinas contra a Covid-19 estão sendo desenvolvidas a partir de um vetor viral que carrega, além de genes imunomoduladores, genes que codificam para proteínas virais capazes de modificar aAPC e ativar células T. A Shenzhen Geno-Immune Medical Institute (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04276896) pretende desenvolver uma vacina inovadora usando um sistema de lentivírus para expressar proteínas virais e genes imunomoduladores em células apresentadoras de antígenos artificiais (aAPC), para assim para ativar as células T. AV-COVID-19 é uma vacina em desenvolvimento pela Aivita Biomedical Inc. (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04386252) que utiliza células dendríticas autólogas expostas a antígenos de SARS-CoV-2.

Até o momento, considerando-se o estágio inicial de desenvolvimento dessa tecnologia, o uso de vacinas baseadas em células é bastante limitado, principalmente, pelo alto custo de produção, condições de armazenamento e transporte (CHUNG et al., 2021).

Conclusões e perspectivas

Eventos pandêmicos são eventos recorrentes observados na história que atingem toda a humanidade. A última pandemia mais relevante foi a da gripe espanhola, matando cerca de 40-100 milhões de pessoas, principalmente

na faixa de jovens e adultos (15 a 34 anos de idade). Naquele momento, as tecnologias eram limitadas e não se sabia o agente causador da doença, o que só foi identificado mais tarde (TAUBENBERGER, 2007). Atualmente, o processo de identificação do SARS-CoV-2 como agente causador da Covid-19 foi extremamente rápido, quando comparado ao da pandemia da gripe espanhola. A tecnologia e os recursos disponíveis são hoje incomparavelmente superiores àqueles disponíveis em 1918-1919. A partir do anúncio do primeiro caso de Covid-19 na cidade de Wuhan em 31/12/2019, o genoma do SARS-CoV-2 foi completamente sequenciado e disponibilizado em 10/01/2020. Em menos de um ano, diversas vacinas foram desenvolvidas e, em 31/12/2020, a Organização Mundial da Saúde autorizou para uso emergencial a vacina da Pfizer-BioNTech, sendo também, pela primeira vez, realizado o uso de uma vacina baseada em RNAm. Assim, fica evidente a capacidade de resposta mundial a uma pandemia e a vacina de RNAm como uma nova estratégia para este tipo de resposta.

O mundo, a partir desta experiência ainda inacabada, deverá aprimorar cada vez mais os mecanismos de monitoramento de doenças. Os métodos moleculares serão cada vez mais importantes, não só pela detecção de patógenos já conhecidos, mas também pela sua capacidade de discriminação do agente etiológico e suas variantes a partir do sequenciamento genético. As plataformas tecnológicas de resposta rápida serão priorizadas no desenvolvimento de protótipos vacinais. Isto não quer dizer que estas plataformas sejam as melhores para a produção de vacinas de uso de rotina de uma forma geral, mas, sim, para gerar as vacinas candidatas para testes. Fica também evidente a deficiência no suprimento de vacinas para o mundo, sendo priorizados os países produtores. Neste contexto, parece ser estratégico que países ou regiões dos continentes possam produzir localmente suas vacinas, contribuindo para um acesso menos desigual. Conforme mostramos, existem várias vacinas aprovadas, as quais utilizam tecnologias das mais diversas, como vírus inativados e de subunidade, que são tecnologias mais antigas, porém, eficazes. No entanto, estas tecnologias parecem apresentar menor velocidade de desenvolvimento em relação

às plataformas do tipo *plug and play*, como aquelas vetorizadas em vírus ou de ácidos nucleicos. Isto porque os processos de produção e purificação dos vírus ou dos ácidos nucleicos não variam (independentemente do agente infeccioso), ao contrário dos vírus inativados e de subunidade que, para cada caso, os processos de produção e purificação deverão ser específicos aos antígenos em questão. Outras ações deverão ser necessárias, mas não farão parte da discussão deste artigo.

Até o momento, há 15 vacinas aprovadas (Tabela 1) e 110 candidatas (33 em fase 3, 45 em fase 2 e 32 em fase 1) (COVID-19 Vaccine Tracker (<https://covid19.trackervaccines.org/vaccines/>; acesso em 11/05/2021).

Tabela 1: Vacinas contra Covid-19 aprovadas

Nome	Desenvolvedor	Plataforma	Ensaio (países)	Aprovada (países)
EpiVacCorona	FBRI	Subunidade de proteína	1	2
RBD-Dimer	Anhui Zhifei Longcom	Subunidade de proteína	5	2
mRNA-1273	Moderna	RNA	3	46
BNT162b2	Pfizer/BioNTech	RNA	12	85
Ad5-nCoV	Cansino	Vetor viral não replicante	6	5
Sputnik V	Gamaleya	Vetor viral não replicante	6	66
Ad26.COV2.S	Janssen (Johnson & Johnson)	Vetor viral não replicante	17	41
AZD1222	Oxford/AstraZeneca	Vetor viral não replicante	15	102
Covishield	Serum Institute of India	Vetor viral não replicante	1	40

Covaxin	Bharat Biotech	Vírus Inativado	1	9
BBIBP-CorV	Sinopharm (Beijing)	Vírus Inativado	7	41
Inactivated (Vero Cells)	Sinopharm (Wuhan)	Vírus Inativado	7	2
CoronaVac	Sinovac	Vírus Inativado	7	25
KoviVac	Chumakov Center	Vírus Inativado	1	1
QazCovid-in	Kazakhstan RIBSP	Vírus Inativado	1	1

Fonte:
 COVID-19 Vaccine Tracker (<https://covid19.trackvaccines.org/vaccines/>;
 acesso em: 11/05/2021).

Apesar de todo o avanço, o mundo ainda precisa de mais vacinas para o controle da Covid-19. Os riscos de não ter a população vacinada em um curto prazo é não ter o controle da doença, com a persistência do vírus no ambiente, permitindo-se a continuidade da cadeia de infecção e a seleção de novas variantes que possam escapar às vacinas desenvolvidas. Além disso, os países que tiverem a sua população vacinada poderão recuperar o seu desenvolvimento econômico e social mais rapidamente, representando uma grande vantagem e oportunidade em relação àqueles que não tiveram êxito no processo de vacinação.

Referências

- AGRAWAL, A. S. et al. Immunization with inactivated Middle East Respiratory Syndrome coronavirus vaccine leads to lung immunopathology on challenge with live virus. **Hum Vaccin Immunother**, v. 12, n. 9, p. 2351-6, Sep 2016. ISSN 2164-554X (Electronic) 2164-5515 (Linking). Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=27269431.
- AMANAT, F.; KRAMMER, F. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. **Immunity**, v. 52, n. 4, p. 583-589, Apr 14 2020. ISSN 1097-4180 (Electronic) 1074-7613 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32259480 >.
- BAO, L. et al. Reinfection Could Not Occur in SARS-CoV-2 Infected Rhesus Macaques. **bioRxiv**, 2020.03.13.9902262020.; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.13.990226>.
- BELETE, T. M. Review on Up-to-Date Status of Candidate Vaccines for COVID-19 Disease. **Infect Drug Resist**, v. 14, p. 151-161, 2021. ISSN 1178-6973 (Print) 1178-6973 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33500636 .
- BLOOM, K.; VAN DEN BERG, F.; ARBUTHNOT, P. Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases. **Gene Ther**, v. 28, n. 3-4, p. 117-129, Apr 2021. ISSN 1476-5462 (Electronic) 0969-7128 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33093657 >.
- BOLLES, M. et al. A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge. **J Virol**, v. 85, n. 23, p. 12201-15, Dec 2011. ISSN 1098-5514 (Electronic) 0022-538X (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=21937658 >.

- BOS, R. et al. Ad26 vector-based COVID-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses. **NPJ Vaccines**, v. 5, n. 1, p. 91, Sep 28 2020. ISSN 2059-0105 (Electronic) 2059-0105 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=34580303 >.
- BUONAGURO, F. M. et al. Covid-19: Time for a paradigm change. **Rev Med Virol**, v. 30, n. 5, p. e2134, Sep 2020. ISSN 1099-1654 (Electronic) 1052-9276 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32618072 >.
- CHANNAPPANAVAR, R. et al. Virus-specific memory CD8 T cells provide substantial protection from lethal severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. **J Virol**, v. 88, n. 19, p. 11034-44, Oct 2014. ISSN 1098-5514 (Electronic) 0022-538X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=25056892 >.
- CHEN, N. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 507-513, Feb 15 2020. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32007143 >.
- CHUNG, J. Y.; THONE, M. N.; KWON, Y. J. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 170, p. 1-25, Mar 2021. ISSN 1872-8294 (Electronic) 0169-409X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33359141 >.
- DHAMA, K. et al. Coronavirus Disease 2019-COVID-19. **Clin Microbiol Rev**, v. 33, n. 4, Sep 16 2020. ISSN 1098-6618 (Electronic) 0893-8512 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

- entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32580969 >.
- DIAO, B. et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **Front Immunol**, v. 11, p. 827, 2020. ISSN 1664-3224 (Electronic) 1664-3224 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32425950 >.
- ELLA, R. et al. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBV152: interim results from a double-blind, randomised, multicentre, phase 2 trial, and 3-month follow-up of a double-blind, randomised phase 1 trial. **Lancet Infect Dis**, v. 21, n. 7, p. 950-961, Jul 2021. ISSN 1474-4457 (Electronic) 1473-3099 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33705727 >.
- FAN, Y. Y. et al. Characterization of SARS-CoV-specific memory T cells from recovered individuals 4 years after infection. **Arch Virol**, v. 154, n. 7, p. 1093-9, 2009. ISSN 1432-8798 (Electronic) 0304-8608 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19526193 >.
- FUNG, T. S.; LIU, D. X. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. **Annu Rev Microbiol**, v. 73, p. 529-557, Sep 8 2019. ISSN 1545-3251 (Electronic) 0066-4227 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=31226023 >.
- GHORBANI, A. et al. Development of a novel platform of virus-like particle (VLP)-based vaccine against COVID-19 by exposing epitopes: an immunoinformatics approach. **New Microbes New Infect**, v. 38, p. 100786, Nov 2020. ISSN 2052-2975 (Print) 2052-2975 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33072338 >.
- GOES DE JESUS, J. et al. First cases of coronavirus disease (COVID-19) in Brazil, South America (2 genomes, 3rd March 2020) (<https://virological>).

org/t/first-cases-of-coronavirus-disease-covid-19-in-brazil-south-america-2-genomes-3rd-march-2020/409).

- GRIFONI, A. et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. **Cell**, v. 181, n. 7, p. 1489-1501 e15, Jun 25 2020. ISSN 1097-4172 (Electronic) 0092-8674 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32473127 >.
- GUO, L. et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). **Clin Infect Dis**, v. 71, n. 15, p. 778-785, Jul 28 2020. ISSN 1537-6591 (Electronic) 1058-4838 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32198501 >.
- HOUSER, K. V. et al. Enhanced inflammation in New Zealand white rabbits when MERS-CoV reinfection occurs in the absence of neutralizing antibody. **PLoS Pathog**, v. 13, n. 8, p. e1006565, Aug 2017. ISSN 1553-7374 (Electronic) 1553-7366 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=28817732 >.
- HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, Feb 15 2020. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=31986264 >.
- JU, B. et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. **Nature**, v. 584, n. 7819, p. 115-119, Aug 2020. ISSN 1476-4687 (Electronic) 0028-0836 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32454513 >.
- KAUR, S. P.; GUPTA, V. COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report. **Virus Res**, v. 288, p. 198114, Oct 15 2020. ISSN 1872-7492 (Electronic) 0168-1702 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih>

- gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32800805 >.
- KUBA, K. et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. **Nat Med**, v. 11, n. 8, p. 875-9, Aug 2005. ISSN 1078-8956 (Print) 1078-8956 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16007097 >.
- KUSHNIR, N.; STREATFIELD, S. J.; YUSIBOV, V. Virus-like particles as a highly efficient vaccine platform: diversity of targets and production systems and advances in clinical development. **Vaccine**, v. 31, n. 1, p. 58-83, Dec 17 2012. ISSN 1873-2518 (Electronic) 0264-410X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=23142589 >.
- LAMBERT, P. H. et al. Consensus summary report for CEPI/BC March 12-13, 2020 meeting: Assessment of risk of disease enhancement with COVID-19 vaccines. **Vaccine**, v. 38, n. 31, p. 4783-4791, Jun 26 2020. ISSN 1873-2518 (Electronic) 0264-410X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32507409 >.
- LI, C. K. et al. T cell responses to whole SARS coronavirus in humans. **J Immunol**, v. 181, n. 8, p. 5490-500, Oct 15 2008. ISSN 1550-6606 (Electronic) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18832706 >.
- LI, J. et al. Mapping the T cell response to COVID-19. **Signal Transduct Target Ther**, v. 5, n. 1, p. 112, Jul 2 2020. ISSN 2059-3635 (Electronic) 2059-3635 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32616709 >.
- LOGUNOV, D. Y. et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. **Lancet**, v. 396, n. 10255, p. 887-897, Sep 26 2020. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736

- (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32896291 >.
- LU, B. et al. Effect of mucosal and systemic immunization with virus-like particles of severe acute respiratory syndrome coronavirus in mice. **Immunology**, v. 130, n. 2, p. 254-61, Jun 2010. ISSN 1365-2567 (Electronic) 0019-2805 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20406307 >.
- MADU, I. G. et al. Characterization of a highly conserved domain within the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein S2 domain with characteristics of a viral fusion peptide. **J Virol**, v. 83, n. 15, p. 7411-21, Aug 2009. ISSN 1098-5514 (Electronic) 0022-538X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19439480 >.
- MENACHERY, V. D.; GRAHAM, R. L.; BARIC, R. S. Jumping species—a mechanism for coronavirus persistence and survival. **Curr Opin Virol**, v. 23, p. 1-7, Apr 2017. ISSN 1879-6265 (Electronic) 1879-6257 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=28214731 >.
- MILLET, J. K.; WHITTAKER, G. R. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. **Virus Res**, v. 202, p. 120-34, Apr 16 2015. ISSN 1872-7492 (Electronic) 0168-1702 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=25445340 >.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Saúde e Vigilância. Brasil confirma primeiro caso do novo coronavírus. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2020/02/brasil-confirma-primeiro-caso-do-novo-coronavirus> Acesso em: 26 fev. 2021.
- NI, L. et al. Detection of SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID-19 Convalescent Individuals. **Immunity**, v. 52, n. 6, p. 971-977

- e3, Jun 16 2020. ISSN 1097-4180 (Electronic) 1074-7613 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32413330 >.
- PADRON-REGALADO, E. Vaccines for SARS-CoV-2: Lessons from Other Coronavirus Strains. **Infect Dis Ther**, p. 1-20, Apr 23 2020. ISSN 2193-8229 (Print) 2193-6382 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32328406 >.
- PALACIOS, R. et al. Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of treating Healthcare Professionals with the Adsorbed COVID-19 (Inactivated) Vaccine Manufactured by Sinovac - PROFISCOV: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. **Trials**, v. 21, n. 1, p. 853, Oct 15 2020. ISSN 1745-6215 (Electronic) 1745-6215 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33059771 >.
- PALLESEN, J. et al. Immunogenicity and structures of a rationally designed prefusion MERS-CoV spike antigen. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 114, n. 35, p. E7348-E7357, Aug 29 2017. ISSN 1091-6490 (Electronic) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=28807998 >.
- PARDI, N. et al. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. **Nat Rev Drug Discov**, v. 17, n. 4, p. 261-279, Apr 2018. ISSN 1474-1784 (Electronic) 1474-1776 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=29326426 >.
- PARK, J. E. et al. Proteolytic processing of Middle East respiratory syndrome coronavirus spikes expands virus tropism. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 113, n. 43, p. 12262-12267, Oct 25 2016. ISSN 1091-6490 (Electronic) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=27791014 >.

- PATEL, R. et al. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19. **mBio**, v. 11, n. 2, Mar 26 2020. ISSN 2150-7511 (Electronic). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32217609 >.
- PENG, H. et al. Long-lived memory T lymphocyte responses against SARS coronavirus nucleocapsid protein in SARS-recovered patients. **Virology**, v. 351, n. 2, p. 466-75, Aug 1 2006. ISSN 0042-6822 (Print) 0042-6822 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16690096 >.
- PEREZ, C. R.; DE PALMA, M. Engineering dendritic cell vaccines to improve cancer immunotherapy. **Nat Commun**, v. 10, n. 1, p. 5408, Nov 27 2019. ISSN 2041-1723 (Electronic) 2041-1723 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=31776331 >.
- PIYUSH, R. et al. Nucleic acid-based therapy for coronavirus disease 2019. **Heliyon**, v. 6, n. 9, p. e05007, Sep 2020. ISSN 2405-8440 (Print) 2405-8440 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32984620 >.
- ROBERT-GUROFF, M. Replicating and non-replicating viral vectors for vaccine development. **Curr Opin Biotechnol**, v. 18, n. 6, p. 546-56, Dec 2007. ISSN 0958-1669 (Print) 0958-1669 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18063357 >.
- SABADO, R. L.; BALAN, S.; BHARDWAJ, N. Dendritic cell-based immunotherapy. **Cell Res**, v. 27, n. 1, p. 74-95, Jan 2017. ISSN 1748-7838 (Electronic) 1001-0602 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=28025976 >.

- SAYEDAHMED, E. E. et al. Adenoviral Vector-Based Vaccine Platforms for Developing the Next Generation of Influenza Vaccines. **Vaccines (Basel)**, v. 8, n. 4, p. 574, Oct 1 2020. doi: 10.3390/vaccines8040574. PMID: 33019589; PMCID: PMC7712206.
- SCHOEMAN, D.; FIELDING, B. C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. **Virol J**, v. 16, n. 1, p. 69, May 27 2019. ISSN 1743-422X (Electronic) 1743-422X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=31133031 >.
- SEKINE, T. et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. **Cell**, v. 183, n. 1, p. 158-168 e14, Oct 1 2020. ISSN 1097-4172 (Electronic) 0092-8674 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32979941 >.
- SHIM, B. S. 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**, v. 9, p. 215, Sep 21 2012. ISSN 1743-422X (Electronic) 1743-422X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=22995185 >.
- SILVEIRA, M. M.; MOREIRA, G.; MENDONÇA, M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. **Life Sci**, v. 267, p. 118919, Feb 15 2021. ISSN 1879-0631 (Electronic) 0024-3205 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33352173 >.
- SNIJDER, E. J.; DECROLY, E.; ZIEBUHR, J. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. **Adv Virus Res**, v. 96, p. 59-126, 2016. ISSN 1557-8399 (Electronic) 0065-3527 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=27712628 >.
- SOLA, I. et al. Continuous and Discontinuous RNA Synthesis in Coronaviruses. **Annu Rev Virol**, v. 2, n. 1, p. 265-88, Nov 2015. ISSN 2327-0578 (Electronic)

- 2327-056X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=26958916 >.
- SONG, W. et al. Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. **PLoS Pathog**, v. 14, n. 8, p. e1007236, Aug 2018. ISSN 1553-7374 (Electronic) 1553-7366 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=30102747 >.
- STRIZOVA, Z. et al. Principles and Challenges in anti-COVID-19 Vaccine Development. *Int Arch Allergy Immunol*, v. 182, n. 4, p. 339-349, 2021. ISSN 1423-0097 (Electronic) 1018-2438 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33524979 >.
- SUN, D. W. et al. The underlying changes and predicting role of peripheral blood inflammatory cells in severe COVID-19 patients: A sentinel? **Clin Chim Acta**, v. 508, p. 122-129, Sep 2020. ISSN 1873-3492 (Electronic) 0009-8981 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32417210 >.
- TANG, F. et al. Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study. **J Immunol**, v. 186, n. 12, p. 7264-8, Jun 15 2011. ISSN 1550-6606 (Electronic) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=21576510 >.
- TAUBENBERGER, J. K.; HULTIN, J. V.; MORENS, D. M. Discovery and characterization of the 1918 pandemic influenza virus in historical context. **Antivir Ther**, v. 12, n. 4 Pt B, p. 581-91, 2007. ISSN 1359-6535 (Print) 1359-6535 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17944266 >.
- TEBAS, P. et al. Safety and immunogenicity of INO-4800 DNA vaccine against SARS-CoV-2: A preliminary

- report of an open-label, Phase 1 clinical trial. **EClinicalMedicine**, v. 31, p. 100689, Jan 2021. ISSN 2589-5370 (Electronic) 2589-5370 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33392485 >.
- THEEL, E. S. et al. The Role of Antibody Testing for SARS-CoV-2: Is There One? **J Clin Microbiol**, v. 58, n. 8, Jul 23 2020. ISSN 1098-660X (Electronic) 0095-1137 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32350047 >.
- TIRADO, S. M.; YOON, K. J. Antibody-dependent enhancement of virus infection and disease. **Viral Immunol**, v. 16, n. 1, p. 69-86, 2003. ISSN 0882-8245 (Print) 0882-8245 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12725690 >.
- TO, K. K. 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. **Lancet Infect Dis**, v. 20, n. 5, p. 565-574, May 2020. ISSN 1474-4457 (Electronic) 1473-3099 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32213337 >.
- TORTORICI, M. A.; VEESLER, D. Structural insights into coronavirus entry. **Adv Virus Res**, v. 105, p. 93-116, 2019. ISSN 1557-8399 (Electronic) 0065-3527 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=31522710 >.
- TSENG, C. T. et al. Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. **PLoS One**, v. 7, n. 4, p. e35421, 2012. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=22536382 >.
- VAN DOREMALEN, N. et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. **Nature**, v. 586, n. 7830, p. 578-582, Oct 2020.

- ISSN 1476-4687 (Electronic) 0028-0836 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32731258 >.
- WADMAN, M. Public needs to prep for vaccine side effects. **Science**, v. 370, n. 6520, p. 1022, Nov 27 2020. ISSN 1095-9203 (Electronic) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33243869 >.
- WALLS, A. C. et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. **Cell**, v. 183, n. 6, p. 1735, Dec 10 2020. ISSN 1097-4172 (Electronic) 0092-8674 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=33306958 >.
- WAN, S. et al. Characteristics of Lymphocyte Subsets and Cytokines in Peripheral Blood of 123 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus Pneumonia (NCP). 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.10.20021832>.
- WANG, N. et al. Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. **Front Microbiol**, v. 11, p. 298, 2020. ISSN 1664-302X (Print) 1664-302X (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32265848 >.
- WEISKOPF, D. et al. Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. **Sci Immunol**, v. 5, n. 48, Jun 26 2020. ISSN 2470-9468 (Electronic) 2470-9468 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32591408 >.
- WHO - World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. WHO, 2020a. Disponível em: <https://www.who.int/>. Acesso em: 22 fev. 2020.
- WHO - World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19.

- WHO, 2020b. Disponível em: <https://www.who.int/>. Acesso em: 11 mar. 2020.
- WHO - World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. WHO, 2020c. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 11 mar. 2020.
- WHO - World Health Organization. Status of COVID-19 Vaccines within WHO EUL/PQ evaluation process. WHO, 2021. Disponível em: https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/Status_COVID_VAX_20Oct2021.pdf. Acesso em: 20 out. 2021.
- WOLFF, J. A. et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. **Science**, v. 247, n. 4949 Pt 1, p. 1465-8, Mar 23 1990. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1690918 >.
- WRAPP, D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. **Science**, v. 367, n. 6483, p. 1260-1263, Mar 13 2020. ISSN 1095-9203 (Electronic) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32075877 >.
- WU, F. et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. **SSRN Electronic Journal**. 2020 <http://doi.org/10.2139/ssrn.3566211>.
- YAN, R. et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. **Science**, v. 367, n. 6485, p. 1444-1448, Mar 27 2020. ISSN 1095-9203 (Electronic) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32132184 >.
- YUAN, Y. et al. Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains. **Nat Commun**, v. 8, p. 15092, Apr 10 2017. ISSN 2041-1723 (Electronic) 2041-1723 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=28393837 >.

- ZHOU, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270-273, Mar 2020. ISSN 1476-4687 (Electronic) 0028-0836 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=32015507 >.
- ZHU, N. et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **N Engl J Med**, v. 382, n. 8, p. 727-733, Feb 20 2020. ISSN 1533-4406 (Electronic) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=31978945 >.