

SBM SOCIEDADE  
BRASILEIRA DE  
MICROBIOLOGIA

# 22

# MICROBIOLOGIA *in foco*

informativo sbm • ano 5 / 2013

**A revista do  
Microbiologista.**

[www.sbmicrobiologia.org.br](http://www.sbmicrobiologia.org.br)

ISSN 1982-1301



Os créditos de foto devem ser dados ao banco de imagem Dreamstime ([www.dreamstime.com](http://www.dreamstime.com)) e ao Bruno Balada (profissional que trabalha o conceito em cima da imagem)



As vacinas representam uma das mais importantes conquistas em saúde pública na história da humanidade. Das primeiras experiências conduzidas por Edward Jenner e Louis Pasteur ao impacto das vacinas recombinante atuais, como as vacinas contra a infecção pelo vírus da hepatite B ou pelo vírus papiloma, se passaram cerca de dois séculos. Nesse período os avanços nas tecnologias vacinais e, sobretudo, no conhecimento dos mecanismos da patogênese microbiana e do nosso sistema imunológico foram impressionantes. Como resultado concreto, temos hoje a erradicação da varíola, outras doenças seguem a mesma trajetória, como a poliomielite, o sarampo, e a rubéola, entre outras. No entanto, os desafios envolvidos com a descoberta de uma nova vacina eficaz ainda são formidáveis. Não temos vacinas para a prevenção de inúmeras doenças infecciosas, como aquelas causadas por fungos ou parasitas, ou várias doenças causadas por vírus (AIDS, herpes, dengue) e diversas bactérias. Por outro lado, constata-se um movimento crescente, em escala mundial, para denegrir os benefícios da prática vacinal que levantam dúvidas sobre a eficácia e os riscos associados a várias vacinas.

Com o intuito de difundir o conhecimento sobre vacinas e esclarecer dúvidas sobre o tema, a Microbiologia in foco dedica um fascículo especial às vacinas. Como resultado de um simpósio realizado no final do mês de julho no Instituto de Ciências Biomédicas da USP, apresentado por alunos graduados de diferentes programas de pós-graduação, intitulado "Vacinas: presente & futuro", selecionamos cinco temas que tratam de vacinas amplamente utilizadas pela população (vacina para o controle da gripe, pólio e tuberculose) e vacinas experimentais voltadas para a prevenção de infecções fúngicas (candidíase e paracoccidiodomicose). Os cinco artigos tratam de diferentes aspectos relacionados aos patógenos e as respectivas estratégias empregadas no desenvolvimento das vacinas. Cada um dos artigos procura explicar, de forma acessível, a importância do conhecimento das relações patógeno-hospedeiro e de como esse conhecimento direcionou ou direciona a busca de vacinas seguras e eficazes de forma cada vez mais racional. Esperamos que os leitores da revista apreciem os temas apresentados e compreendam um pouco mais o trabalho de profissionais, inclusive microbiologistas, que, assim como Jenner e Pasteur, dedicaram e dedicam suas vidas à melhora da saúde humana por meio da descoberta, produção e disseminação do uso das vacinas.

Luis Carlos S. Ferreira



**Adalberto Pessoa Junior**  
Presidente

**Marina B. Martinez**  
Editora

**Carlos P. Taborda**  
Editor

## Ciência in Foco

**VACINAS PARA O CONTROLE DE CANDIDA: REALIDADE E FUTURO . . . 5**

**TENDÊNCIAS E DESAFIOS PARA O APERFEIÇOAMENTO DA VACINA CONTRA O VÍRUS INFLUENZA. . . . . 9**

**AVANÇOS NA PESQUISA DE VACINAS CONTRA A PARACOCIDIODOMICOSE. . . . . 14**

**VACINAS CONTRA A POLIOMIELITE: HISTÓRICO E PERSPECTIVA DE ERRADICAÇÃO. . . . . 20**

**UMA VACINA EFICAZ CONTRA A TUBERCULOSE: BCG OU NOVAS ESTRATÉGIAS VACINAIS . . . . . 25**

## Entrevistas e Opiniões

**UMA NOVA ARMA NO COMBATE À EPIDEMIA GLOBAL DA TUBERCULOSE. . . . . 31**

**ESFORÇO CONJUNTO. . . . . 32**

**SELO DE QUALIDADE SBM . . . . . 33**

**SBM IN FOCO . . . . . 34**

**AGENDA IN FOCO . . . . . 35**

**CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO E APERFEIÇOAMENTO EM MICROBIOLOGIA . . . . . 36**

**FIQUE SÓCIO . . . . . 37**

## Expediente

**SBM in Foco**  
**Revista da Sociedade Brasileira de Microbiologia**

Ano 5, nº 22  
São Paulo: SBM, 2013

Periodicidade Trimestral

**Editores:**  
Carlos P. Taborda e Marina B. Martinez

**Tiragem:**  
2000 exemplares - Circulação Nacional  
Distribuição gratuita para sócios SBM

**Diagramação:**  
Hermano Design Editorial  
hermano@nextis.com

**Responsabilidade autoral:**  
Todos os artigos assinados são de responsabilidade dos respectivos autores

**Responsabilidade editorial:**  
Tífani Luri N. Hanashiro



# VACINAS PARA O CONTROLE DE *CANDIDA*: REALIDADE E FUTURO



Lucas dos Santos Dias<sup>1</sup>, Leandro Buffoni Roque da Silva<sup>1</sup>, Maria Elisabete Sbrogio-Almeida<sup>2</sup>, e Luís Carlos de Souza Ferreira<sup>1</sup>

1- Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

2 – Instituto Butantan, Centro de Biotecnologia.

O gênero fúngico *Candida* compreende mais de 150 espécies, sendo que as mais estudadas são a *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*. São fungos normalmente comensais presentes em diversas partes do corpo humano (pele, estômago, mucosa oral e vagina). De modo geral, são encontrados sob a forma de levedura, mas *C. albicans* e *C. tropicalis* se mostram dimórficas, isto é, podem alterar da forma levedura para a filamentosa, e vice-versa, quando em contato com um estímulo específico como temperatura, alteração de pH, níveis de estrogênio, fosfato, nitrogênio e N-acetilglicosamina (11). Embora os fungos do gênero *Candida* geralmente não causem doença ao hospedeiro humano, o desenvolvimento das denominadas candidíases pode ocorrer a partir de alguns fatores como: imunossupressão, alterações hormonais, antibioticoterapia, rompimento da barreira epitelial, entre outros. A doença pode estar restrita a um sítio específico ou disseminada por diversos órgãos (Tabela 1). A espécie *C. albicans* é o principal agente etiológico da candidíase, porém outras espécies também podem ser responsáveis, tais como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* (6).

TABELA 1. PRINCIPAIS FORMAS DE CANDIDÍASES

Doença	Informações gerais e epidemiológicas
Candidíase sistêmica	Disseminação do fungo para diversos órgãos através do sangue. A doença acomete pacientes em unidade de tratamento intensivo, pacientes que fazem uso de cateter e/ou sistemas mecânicos de ventilação e alimentação, e pacientes transplantados.
Candidíase oral	Forma localizada na região oral conhecida popularmente como "sapinho". Ocorre em todas as idades, sendo a sintomatologia agressiva observada em crianças, idosos e pacientes imunodeprimidos.
Candidíase vaginal	Infecção comum que afeta até 75% das mulheres em idade fértil em todo o mundo pelo menos uma vez na vida.
Candidíase vulvovaginal recorrente	Doença crônica e localizada. Definida como a ocorrência de quatro ou mais episódios de candidíase vaginal no período de um ano. Cerca de 7% das mulheres com candidíase vaginal desenvolvem essa forma da doença.

A candidíase sistêmica é a quarta doença mais comum entre as infecções sanguíneas nosocomiais nos Estados Unidos e em muitos países da Europa (7), superando infecções causadas por muitas bactérias. A taxa de mortalidade por essas infecções varia de 30 a 40%, mesmo após tratamento com antifúngicos. Já a candidíase vulvovaginal recorrente afeta a qualidade de vida das pacientes afetadas e necessita de tratamento antimicótico prolongado e frequentemente são observados casos de resistência ao tratamento (2). Ambas as formas de doença tem um efeito significativo na qualidade de vida e, juntos, representam um enorme impacto em

saúde pública. A introdução de novas abordagens terapêuticas que visem solucionar esse problema é, portanto, uma necessidade.

## RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS DESENCADEADAS CONTRA *CANDIDA*

A contribuição de anticorpos na defesa do hospedeiro contra doenças fúngicas invasivas tem sido negligenciada, mas evidências sobre o papel protetor deste tipo de resposta imunológica têm aumentado nos últimos anos. Anticorpos protetores capazes de reconhecer polissacarídeos, proteínas e peptídeos

da parede celular de *C. albicans* foram descritos (3,15). A proteção mediada por anticorpos parece ser extremamente importante para o controle da candidíase vaginal, onde são necessárias as presenças de IgA e IgG no fluido vaginal.

A participação de uma resposta celular (Th1) em candidíase também parece ser importante para a resolução da doença. Isso foi demonstrado em pacientes com AIDS que são mais susceptíveis a desenvolver candidíase oral. Uma resposta Th17 que induz estado inflamatório substancial, tendo como principal componente o recrutamento de neutrófilos para o local, também está envolvida na candidíase, mas a população de neutrófilos deve ser regulada para que não ocorra um efeito prejudicial ao paciente. De fato, tanto a redução de linfócitos Th1 quanto Th17 prejudica a capacidade de controle de crescimento de fungos. Não obstante, a participação de uma resposta mediada por anticorpos também parece ser importante. Assim, o contexto em candidíase evidencia a complexidade da resposta imune envolvida no estado de proteção imunológica e, conseqüentemente, no desenvolvimento de estratégias de prevenção por vacinas.

## CANDIDATOS VACINAIS PARA O CONTROLE DA CANDIDÍASE

A necessidade de desenvolver vacinas contra *Candida* surge a partir do momento em que as candidíases, sobretudo aquelas de forma sistêmica, passam a ter grande impacto em saúde pública e que, além disto, medidas terapêuticas atualmente disponíveis se mostram ineficazes em função do problema da resistência aos antifúngicos. Até o momento, não se dispõem de vacinas seguras e eficazes voltadas para a prevenção de infecções fúngicas, em particular, para candidíases. No entanto, avanços recentes abrem perspectivas promissoras para a descoberta de vacinas capazes de prevenir a doença ou mesmo tratar a doença.

Nesse contexto, esforços têm sido feitos na busca de vacinas contra *Candida* (12). O trabalho em pesquisa sobre vacinas revela não só a diversidade de abordagens como também os mecanismos imunológicos que se procura ativar,

**TABELA 2. ESTRATÉGIAS VACINAIS ATUALMENTE EM ESTUDO CONTRA *CANDIDA***

Antígenos ou componentes empregado	Proteção	Imunidade
rAls3-N	Vaginal, sistêmica e oral	Anticorpo
rHyr1p-N	Sistêmica	Anticorpo
Fosfogliceratoquinase	Oral	Anticorpo
HSP90	Sistêmica e vaginal	Anticorpo
Enolase	Sistêmica	Anticorpo e Th1
Manoproteínas	Vaginal	Anticorpos e Th1
DC estimuladas com RNA	Sistêmica	Th1
DNA	Gastrointestinal	Th1
$\beta$ -glucan (Laminarina-CRM 197)	Sistêmica e vaginal	Anticorpos
$\beta$ -(Man)3-Fba-TT	Sistêmica	Anticorpos e Th1
Sap2 (PEV7)	Vaginal	Anticorpos
rAls3-p (NDV-3)	Vaginal, oral e sistêmica	Th1 e Th17

DC: célula dendrítica

visando conferir proteção (Tabela 2). Os antígenos utilizados são proteínas (Als3, Sap2, Hyr1, enolase, fosfogliceratoquinase e HSP90), carboidratos ( $\beta$ -glucan, manose), material genético (DNA ou RNA) ou uma associação proteína-carboidrato (manoproteínas e  $\beta$ -(Man)3-Fba). A maioria desses estudos em *Candida* tem mostrado que anticorpos desencadeados por diferentes antígenos vacinais estão envolvidos na proteção, seja contra candidíase vaginal, oral ou sistêmica. Em contrapartida, alguns estudos têm mostrado que as respostas protetoras desencadeadas pela vacinação priorizaria a imunidade celular, particularmente a ativação de linfócitos Th1 e Th17.

## NDV-3 E PEV7: OS CANDIDATOS VACINAIS MAIS PROMISSORES

Até o presente momento, há duas vacinas contra *Candida* que estão em fase clínica I: NDV-3 e PEV7. Essas duas formulações vacinais são baseadas em diferentes moléculas-alvo do fungo e promovem a ativação de distintas respostas imunológicas relacionadas à proteção. A vacina NDV-3 desenvolvida pela empresa NovaDigm Therapeutics (EUA) é baseada na proteína Als3, uma molécula extremamente importante para *C. albicans* que está presente quando o fungo se encontra na forma de pseudo-hifa ou

hifa verdadeira. O componente ativo da vacina é a versão recombinante da região amino-terminal da proteína Als3 de *C. albicans* que é administrada com hidróxido de alumínio como adjuvante vacinal. Esse antígeno vacinal se mostra protetor em modelos de candidíase vaginal, oral e sistêmica. Além disso, mostrou ser efetivo contra várias espécies de *Candida* e contra diversos isolados de *S. aureus* (5, 10). A proteção imunológica conferida envolve a produção de INF- $\gamma$  e IL-17A por linfócitos Th1 e Th17, respectivamente, embora também sejam observadas a presença de anticorpos IgG e IgA, específicos contra Als3 (9).

A vacina PEV7 é baseada na proteína Sap2 e está sendo desenvolvida pela empresa Pevion Vaccines (Suíça). A proteína Sap2 pertence à família das aspartil proteinases secretadas, composta de 10 membros, sendo que a Sap2 parece ser ativamente envolvida na candidíase vaginal. Associação de uma versão amino-truncada da proteína Sap2 a virossomos de influenza, possibilitou a produção de anticorpos, das classes IgG e IgA específicos contra Sap2 que conferem proteção em modelo experimental de candidíase vaginal. Considerando-se que a candidíase vaginal é um evento local na mucosa vaginal, a vacina PEV7 consegue induzir a produção de anticorpos sistêmicos e em mucosas quando administrada por via intramuscular ou intravaginal (4).

## β-(MAN)3-FBA-TT: UMA FORMULAÇÃO VACINAL INOVADORA

O principal obstáculo em vacinas com relação ao uso de moléculas-alvo como proteínas, peptídeos ou carboidratos é a necessidade do uso de adjuvantes ou sistemas de entrega efetivos. Nesse sentido, a vacina β-(Man)<sub>3</sub>-Fba-TT contra *C. albicans* tem aparentemente contornado esse problema. Esta formulação vacinal associa duas moléculas de superfície de *C. albicans* – uma manotriose β-1,2 ligada [β-(Man)<sub>3</sub>] e uma bifosfato-frutose aldolase (Fba) - a um carregador clássico, o toxóide tetânico (TT). Essa vacina conferiu proteção mediada por anticorpos em um modelo experimental de candidíase sistêmica. Esses anticorpos reconhecem *C. albicans* tanto na forma de hifa quanto na forma de levedura e conferiram proteção quando utilizados de forma passiva contra candidíase sistêmica (14). Uma observação interessante foi a demonstração de que a vacina se mostra capaz de conferir proteção contra candidíase sistêmica sem a necessidade de adjuvantes (14).

## LAMINARINA-CRM197: UMA VACINA FÚNGICA UNIVERSAL?

A empresa Novartis desenvolve uma formulação vacinal baseada na molécula de β-glucana como antígeno. Essa molécula é um polímero de D-glicose presente na parede celular da maioria dos fungos. Entretanto, açúcares, em geral, mostram-se fracos imunógenos e não conferem memória imunológica. Esse problema foi contornado pelo uso da laminarina (Lam), uma β-glucana extraída da alga *Laminaria digitata* e similar àquela encontrada em fungos, e a conjugação química com uma proteína microbiana, uma forma atóxica da toxina diftérica. A vacina se mostrou efetiva contra candidíase sistêmica e vaginal em modelos animais e em ensaio pré-clínico recente mostrou ótimos resultados quando associada com uma emulsão de óleo em água, o MF59, um adjuvante que tem sido considerado seguro para uso em humanos (1). A proteção é conferida por anticorpos anti-β-1,3-glucana. Essa vacina foi capaz de

conferir proteção contra outros fungos, como o *Cryptococcus neoformans* e o *Aspergillus fumigatus* (8,13). O efeito contra outros fungos era esperado, uma vez que o antígeno vacinal está presente na maioria dos fungos, fato que é importante para a descoberta de uma vacina universal contra infecções fúngicas.

## CONCLUSÕES

Apesar de duas vacinas estarem em fase de teste clínico e se mostrarem promissoras, há questões cruciais a serem respondidas para que uma vacina contra *Candida* possa ser viabilizada (Quadro1). A primeira delas é que maioria dos antígenos-alvo usados é de *C. albicans*. Embora essa espécie seja a mais frequente nos quadros de candidíase, há outras espécies envolvidas com a doença e com ocorrência crescente nos últimos anos. Uma espécie crítica nesse contexto é a *C. glabrata*, em decorrência da sua resistência inerente aos antifúngicos derivados de azóis. Assim, a vacina protege contra uma espécie mas, com o passar do tempo, outras espécies passam a predominar e o problema persiste.

### QUADRO 1. DESAFIOS PARA A BUSCA DE VACINAS EFETIVAS CONTRA *CANDIDA*.

- I. A maioria das vacinas em estudo é baseada em antígenos de de *C. albicans*. Será necessário desenvolver vacinas contra outras espécies de *Candida*?
- II. Qual o comportamento da vacina em indivíduos imunossuprimidos?
- III. Desenvolvimento de modelos animais mais adequados.
- IV. Quais as consequências esperadas para a administração de uma vacina votada pra o controle de um microorganismo comensal?

No caso de vacinas voltadas para candidíase sistêmica, há uma problemática singular. A maioria dos indivíduos com candidíase sistêmica são imunossuprimidos, e assim a questão é se esses indivíduos tem um número adequado de células imunológicas que possam reconhecer o antígeno vacinal e gerar uma resposta efetiva. Isso é particularmente dramático considerando o uso de vacina em um contexto terapêutico.

O modelo experimental de candidíase em animais - ratos e camundongos - também apresenta limitações. Em camundongos, a resposta inata parece ser extremamente importante para o início e resolução da doença; já em ratos, essa função está mais relacionada à resposta imune adaptativa. São faces da mesma doença ou doenças distintas? Como transpor os achados para humanos?

Por último, e não menos relevante, é o fato de que estão sendo desenvolvidas vacinas para um microrganismo que é comensal. Ocorrerá um desequilíbrio de nicho? Esse desequilíbrio possibilitaria que outros microrganismos comensais aumentem em termos populacionais e passem a causar doenças e desordens no sistema?

Não obstante a essas questões, avanços importantes na busca de uma vacina efetiva contra *Candida* têm sido feitos. Contudo, estímulos à pesquisa e ao desenvolvimento de vacinas voltadas para o controle de infecções fúngicas devem ser mantidos para que nos próximos 10 anos uma vacina efetiva contra *Candida* esteja disponível para uso comercial.

## REFERÊNCIAS

1. Bromuro C, Romano M, Chiani P, Berti F, Tontini M, Proietti D, Mori E, Torosantucci A, Constantino P, Rappuoli R, Cassone A (2010) Beta-glucan-CRM197 conjugates as candidates antifungal vaccines. *Vaccines* 28 (14): 2615-2623.
2. Cassone A, De Bernardis F, Santoni G (2007) Anticandidal immunity and vaginitis: novel opportunities for immune intervention. *Infect Immun* 75 (10): 4675-4686.
3. Cutler JE, Corti M, Lambert P, Ferris M, Xin H (2011) Horizontal transmission of *Candida albicans* and evidence of a vaccine response in mice colonized with the fungus. *PLoS One* 6 (7): e22030.
4. De Bernardis F, Amacker M, Arancia S, Sandini S, Gremionb C, Zurbriggen R, Moser C, Cassone A (2012) A virosomal vaccine against candidal vaginitis: Immunogenicity, efficacy and safety profile in animal models. *Vaccine* 30 (52): 4490-4498.
5. Ibrahim AS, Spellberg BJ, Avanesian V, Fu Y, John E, Edwards Jr JE (2006) The anti-

*Candida* rAls1p-N vaccine is broadly active against disseminated candidiasis. *Infect Immun* 74 (5): 3039–3041.

6. Nucci M, Queiroz-Telles F, Tobón AM, Restrepo A, Colombo AL (2010) Epidemiologic of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clin Infect Dis* 51 (5): 561-570.

7. Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP (1998) National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of *Candida* other than *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE program. SCOPE participant group. Surveillance and control of pathogens of epidemiologic. *Diagn Microbiol Infect Dis* 30 (2): 121–129.

8. Rachini A, Pietrella D, Lupo P, Torosantucci A, Chiani P, Bromuro C, Proietti C, Bistoni F, Cassone A, Vecchiarelli A (2007) An anti- $\beta$ -glucan monoclonal antibody inhibits growth and capsule formation of *Cryptococcus neo-*

*formans* in vitro and exerts therapeutic, anti-cryptococcal activity in vivo. *Infect Immun* 75 (11): 5085–5094.

9. Schmidt CS, Whiteb CJ, Ibrahim AS, Filler SG, Fu Y, Yeaman MR, Edwards Jr JE, Hennessey Jr JP (2012) NDV-3, a recombinant alum-adsorbed vaccine for *Candida* and *Staphylococcus aureus*, is safe and immunogenic in healthy adults. *Vaccine* 30 (52): 7594-7600.

10. Spellberg B, Ibrahim AS, Yea-man MR, Lin L, Fu Y, Avanesian V, Bayer AS, Filler SG, Lipke P, Otoo H, Edwards Jr JE (2008) The antifungal vaccine derived from the recombinant N terminus of Als3p protects mice against the bacterium *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 76 (10): 4574–4580.

11. Sudbery P, Gow N, Berman J (2004) The distinct morphogenic states of *Candida albicans* *Trends in Microb.* 12 (7): 317-124.

12. Vecchiarelli A, Pericolini E, Gabrielli E, Pietrella D (2012) New approaches in the development of a vaccine for mucosal candidiasis: progress and challenges. *Front. Microbiol.* 3:294.

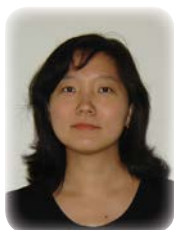
13. Torosantucci A, Bromuro C, Chiani P, De Bernardis F, Berti F, Galli C, Norelli F, Bellucci C, Polonelli L, Costantino P, Rappuoli R, Cassone A (2005) A novel glyco-conjugate vaccine against fungal pathogens. *J Exp Med* 202 (5): 597–606.

14. Xin H, Cartmell J, Bailey JJ, Dziadek S, Bundle DR, Cutler JE (2012) Self-adsorbed glycopeptide conjugate vaccine against disseminated candidiasis. *PLoS One* 7 (4): e35106.

15. Xin H, Cutler JE (2011) Vaccine and monoclonal antibody that enhance mouse resistance to candidiasis. *Clin Vaccine Immunol* 18 (10): 1656–1667.



# TENDÊNCIAS E DESAFIOS PARA O APERFEIÇOAMENTO DA VACINA CONTRA O VÍRUS INFLUENZA



*Daniela Jinzenji<sup>1</sup>, Marina Yukari Kubota<sup>1</sup>, Cosue Miyaki<sup>1</sup>, Jaime Henrique Amorim<sup>2</sup>, Luis Carlos de Souza Ferreira<sup>2</sup>*

*1 – Divisão Bioindustrial, Instituto/Fundação Butantan, São Paulo, Brasil;*

*2 – Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil*

O vírus influenza é uma das causas mais comuns de infecções do trato respiratório e, apesar de geralmente ser uma doença autolimitada, pode trazer complicações mais sérias e até mesmo a morte em indivíduos susceptíveis. O caráter epidêmico e a alta transmissibilidade do vírus podem causar a infecção de uma grande parcela da população, sobrecarregando os sistemas de saúde. A gripe afeta pessoas de todas as idades, e é um dos principais motivos de atendimento médico-hospitalar e de ausência no trabalho e na escola, acumulando custos diretos e indiretos de forma recorrente.

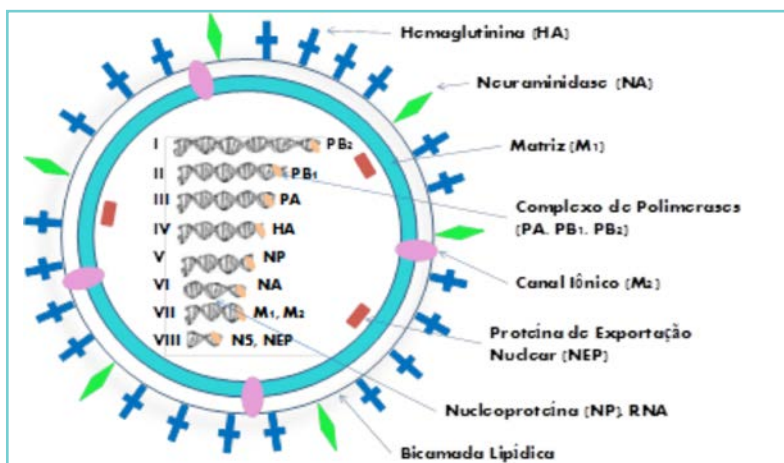
A capacidade genética do vírus influenza de variar sua estrutura antigênica inviabiliza uma vacina universal, assim como impede o desenvolvimento de um estado de proteção imunológica permanente nos indivíduos infectados naturalmente. No entanto, o desenvolvimento de vacinas sazonais auxilia no controle da propagação e na diminuição da mortalidade e morbidade dessa doen-

ça. Nesta revisão apresentamos as principais características do vírus influenza, as principais estratégias atualmente empregadas na produção de vacinas contra o vírus e as perspectivas para a descoberta e o desenvolvimento de vacinas mais efetivas contra a doença.

## CLASSIFICAÇÃO, NOMENCLATURA E ESTRUTURA DO VÍRUS INFLUENZA

Os vírus da influenza pertencem à família *Orthomyxoviridae* e são divididos em três gêneros (*Influenzavirus A*, *B* e *C*). Essa divisão está baseada em diferenças antigênicas de duas proteínas estruturais do vírus: a nucleoproteína (NP) e a proteína de matriz (M) (vide Tabela 1). Os vírus da influenza A são ainda subdivididos em subtipos, de acordo com as características das duas principais glicoproteínas de membrana: a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase

(NA). Foram identificados até o momento 17 subtipos de HA e 9 subtipos de NA, encontrados principalmente em aves selvagens aquáticas, que servem como reservatórios naturais para os vírus da influenza A. Além de aves e humanos, os vírus da influenza A infectam porcos, cavalos, cachorros, morcegos e ocasionalmente mamíferos marinhos. Os humanos são os hospedeiros primários do vírus influenza B, enquanto que os vírus influenza C, mais estáveis, infectam apenas humanos e porcos e têm pouca importância epidemiológica. O rearranjo do material genético entre vírus de animais e de humanos e a transmissão direta entre espécies pode ocorrer ocasionalmente, resultando em novos variantes responsáveis pelas pandemias. Os porcos geralmente são fontes desses novos vírus, porque são susceptíveis à infecção por vírus aviários e humanos, criando vírus híbridos que podem infectar diferentes hospedeiros. Atualmente, circulam entre os humanos os subtipos



**Figura 1** - Representação gráfica da estrutura do vírus influenza e suas principais proteínas.

A/H1N1, A/H3N2 e, mais raramente, o A/H1N2.

Os vírus são nomeados de acordo com as características dos isolados: a nomenclatura inclui o tipo de vírus, a localização geográfica onde foi encontrado, um número de identificação do laboratório e o ano do isolamento. Para os vírus do tipo A, é identificado também o subtipo de HA e de NA e, para os vírus isolados de animais, essa informação é incluída no nome. São exemplos de nomenclatura: A/Hong Kong/220/1997 (H5N1) e B/Massachusetts/2/2012.

Os vírus influenza são envelopados. Como material genético, possuem RNA

fito simples de sentido negativo dividido em 8 segmentos que codificam 11 a 12 proteínas (Tabela 1). As partículas virais medem entre 80 a 120 nm, são esféricas, geralmente pleomórficas, e apresentam a superfície coberta de espículas que consistem das proteínas HA e NA (Figura 1). O RNA segmentado se apresenta em nucleocapsídeos associado à NP e três proteínas de polimerase viral (PB1, PB2 e PA) rodeados por proteínas de matriz e protegidos pelo envelope viral, derivado da membrana celular do hospedeiro (Figura 1). A proteína HA é responsável pela ligação do vírus influenza ao hospedeiro durante o estágio inicial

da infecção por sua afinidade ao ácido siálico da superfície celular e representa o principal antígeno ao qual anticorpos protetores produzidos pelo sistema imune do hospedeiro são direcionados. A HA possui dois domínios: o domínio HA1, que forma a cabeça globular e é bastante variável, e o domínio HA2, que forma a haste e se apresenta mais conservado. A NA, menos abundante, auxilia na liberação do vírus maduro das células infectadas por meio de sua atividade enzimática. O envelope viral contém ainda proteínas de matriz (M1), que aumentam a rigidez da bicamada lipídica, e proteínas transmembrana (M2), que formam canais iônicos. O gene não-estrutural (NS) codifica a proteína multifuncional NS1, encontrada apenas em células infectadas, e a proteína NS2 ou NEP, que está envolvida na exportação dos nucleocapsídeos contendo o RNA viral.

#### ORIGENS DA VARIABILIDADE GENÉTICA DO VÍRUS INFLUENZA

No vírus influenza, o surgimento de novas variantes virais deve-se principalmente a dois processos de variabilidade genética, que ocorrem constantemente: a deriva antigênica (do inglês "antigenic drift") ou variação antigênica menor ou gradual, e a mudança antigênica (do inglês "antigenic shift") ou variação antigênica maior ou drástica. No processo

**TABELA 1 – SEGMENTOS GENÔMICOS E PROTEÍNAS CODIFICADAS PELO VÍRUS INFLUENZA.**

RNA	Gene	Proteína codificada	Funções
1	PB2	Polimerase Básica 2	Componente da polimerase viral.
2	PB1	Polimerase Básica 1	Componente da polimerase viral.
	PB1-F2	-	Proteína viral com funções pró-apoptóticas.
3	PA	Polimerase Ácida	Componente da polimerase viral.
4	HA	Hemaglutinina	Glicoproteína de ligação e fusão da superfície viral.
			Um dos principais alvos antigênicos.
5	NP	Nucleoproteína	Principal componente estrutural do nucleocapsídeo.
			Específico para cada tipo de vírus.
6	NA	Neuraminidase	Glicoproteína da superfície viral com atividade de clivagem. Um dos principais alvos antigênicos.
			Canal iônico glicoproteico, exclusivo dos vírus tipo B.
7	M1	Proteína de matriz	Proteína de matriz da membrana.
			Específico para cada tipo de vírus.
8	NS1	Proteína não-estrutural	Proteína viral não estrutural.
			NS2/NEP

conhecido como deriva antigênica, mutações pontuais nos genes que codificam a HA e NA levam a um novo variante antigênico. Mutações ocorrem sob pressão seletiva de anticorpos do hospedeiro contra a HA viral. Já a mudança antigênica ocorre somente em vírus influenza A e pode se dar de duas formas distintas. No primeiro mecanismo, acontecem alterações genéticas que podem afetar até 50% do genoma do vírus pela recombinação entre isolados virais presentes em diferentes hospedeiros. A segmentação do RNA viral permite a troca de genes entre os vírus infectantes. Assim, a infecção concomitante de um suíno por um vírus aviário e por um vírus humano pode criar novos vírus. Da mesma forma, dois vírus humanos podem se recombinar para formar um novo vírus com características antigênicas novas. Por exemplo, o vírus A/H1N1 da pandemia de 2009 possui segmentos gênicos suínos, aviários e humanos, enquanto que o vírus humano A/H1N2 foi formado após rearranjo entre os vírus humanos A/H3N2 e A/H1N1. O segundo mecanismo envolve a transmissão direta de vírus de animais para humanos, com a subsequente adaptação ao novo hospedeiro, causando doenças graves, como o ocorrido pela transmissão do vírus aviário A/H5N1 para humanos em 2003.

## DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DA VACINA CONTRA A INFLUENZA

A busca de uma vacina contra a influenza teve início no século XIX, mas somente após a descoberta dos vírus influenza A como agente etiológico da doença, na década de 1930, uma vacina pode ser efetivamente desenvolvida. As primeiras vacinas comerciais, contendo o vírus inteiro inativado, foram aprovadas nos EUA em 1945. Essas vacinas foram testadas em militares, que procuravam evitar, durante a Segunda Guerra Mundial, a mortalidade como aquela causada pela pandemia de 1918 durante a Primeira Guerra Mundial.

Embora as vacinas de vírus inteiro inativado ainda estejam em uso em alguns países e mostre-se efetiva, a maioria das vacinas manufaturadas após os anos 70 emprega formulações frag-

mentadas ou de subunidades proteicas (principalmente HA e NA). Essas vacinas mantêm as propriedades imunogênicas das proteínas virais, mas têm sua reatogenicidade (efeitos deletérios) bastante reduzida. Como uma membrana viral intacta é fundamental para a infectividade de vírus envelopados, o rompimento desse envelope, junto com a inativação viral, resulta em formulações vacinais seguras.

Os processos usados atualmente na produção de vacinas comerciais de vírus inativado mantêm algumas características em comum. Cada subtipo de vírus influenza é cultivado individualmente em substratos de origem animal, principalmente ovos de galinha embrionados, mas também em células de mamíferos. Após o período de replicação, os vírus produzidos são recolhidos e inativados por tratamento com formalina ou  $\beta$ -propiolactona. No caso das vacinas baseadas em subunidades, um solvente (como éter ou detergente) é adicionado aos vírus para dissolver o envelope lipídico e liberar as proteínas virais. Várias etapas de purificação são utilizadas para obter as proteínas virais, reduzir a contaminação com proteínas não virais e outros materiais oriundos do cultivo viral. Essas vacinas, monovalentes, são combinadas para formular a vacina final (que pode ser mono, bi, tri, tetra ou até pentavalente), que são então distribuídas para os usuários finais.

Vários processos foram e vêm sendo introduzidos para a melhoria da vacina inativada e de sua produção. A pureza das vacinas vem aumentando com o uso de centrifugações, diálises, ultrafiltrações e etapas cromatográficas para uma remoção mais eficiente de material residual dos ovos embrionados ou células de mamíferos. Novos solventes e detergentes estão sendo usados na preparação de vacinas comerciais. Desde o início dos anos 70, uma linhagem viral selecionada para a replicação rápida em ovos (a linhagem A/PR8) sofreu recombinação genética para expressar a HA e a NA dos vírus selvagens circulantes e é utilizada para a produção de vacinas inativadas com alto rendimento.

## COMPOSIÇÃO DA VACINA INATIVADA

O principal imunógeno da vacina

inativada é a HA, embora quantidades variáveis de NA, M e NP estejam presentes. A quantidade de HA tem sido correlacionada com a imunogenicidade das vacinas contra influenza e sua potência é padronizada por testes de imunodifusão radial simples (IDRS). Atualmente, se utiliza 15  $\mu$ g de cada valência de HA para a vacina intramuscular.

Adjuvantes são substâncias que têm como finalidade aumentar a resposta imune aos antígenos das vacinas. São usados nas vacinas de influenza os sais de alumínio e as emulsões de óleo em água (como os adjuvantes registrados MF59 e AS03) que ampliam e melhoram as respostas imunológicas induzidas e diminuem a quantidade de antígeno necessária para a proteção contra a doença.

As vacinas inativadas usualmente são trivalentes e por isso são também chamadas TIV (do inglês "Trivalent Inactivated Vaccines"). Elas contêm um representante do vírus influenza A/H1N1, um representante da influenza A/H3N2 e um representante do vírus B, que são atualizados a cada ano. A efetividade das vacinas produzidas depende do acerto dos novos variantes virais que estarão em circulação na região alvo da vacinação durante esse período. Vacinas monovalentes têm sido utilizadas somente em circunstâncias especiais, como durante a pandemia A/H1N1 de 2009. Durante os anos 90, os vírus B divergiram em duas linhagens antígenicamente distintas baseadas em suas HAs, o que levou ao uso de vacinas tetravalentes em alguns países nos últimos anos. Por essa razão, atualmente se dá preferência ao uso do nome IIV (do inglês "Inactivated Influenza Vaccine") em lugar de TIV, abrangendo qualquer valência das vacinas.

## RESPOSTA IMUNE FRENTE À VACINAÇÃO

A vacina contra a gripe primariamente induz a formação de anticorpos contra as principais glicoproteínas de superfície, a HA e a NA, embora em alguns casos anticorpos contra outras proteínas possam ser produzidos. Os anticorpos direcionados à HA visam impedir a ligação do vírus ao ácido siálico

do hospedeiro, impedindo a sua entrada na célula. Já para a NA, acredita-se que os anticorpos criados diminuem a propagação do vírus, impedindo-os de serem liberados das células e reduzindo a severidade da infecção. Os títulos de anticorpos anti-virais representam o parâmetro mais comumente medido em estudos de proteção de vacinas uma vez que anticorpos são suficientes para evitar a infecção e ensaios de inibição de hemaglutinação se correlacionam bem com a proteção contra a doença.

### VACINA ATENUADA INTRANASAL (LAIV)

Uma alternativa de imunização para a influenza é a vacina intranasal com vírus atenuado ou LAIV (do inglês "Live Attenuated Influenza Vaccine"). A maior vantagem da LAIV é a sua facilidade de aplicação ("spray" nasal), sendo amplamente aceita e preferida pelas pessoas - principalmente por crianças - em comparação ao uso tradicional de injeções. Essas vacinas usam linhagens atenuadas dos vírus influenza, recombinadas geneticamente para expressar as proteínas HA e NA de vírus selvagens emergentes, mas sem causar doença significante em humanos. Existem diferentes métodos para a produção de vírus atenuados: passagens sucessivas em hospedeiros heterólogos e seleção de mutantes sensíveis à temperatura do corpo humano. As vacinas baseadas em vírus selecionados por passagens sucessivas foram abandonadas, pois mantinham possibilidade de reversão à virulência. Após a atenuação, as vacinas podem ser geradas por recombinação clássica (co-infecção de um vírus doador e um vírus selvagem) ou, mais frequentemente, por genética reversa. Como a vacina inativada, a LAIV usualmente é uma vacina trivalente e as linhagens A/H1N1, A/H3N2 e influenza B são atualizadas a cada ano.

### LINHA DO TEMPO PARA A PRODUÇÃO DE VACINA CONTRA A INFLUENZA

Devido à alta taxa de variabilidade do vírus influenza, a vacina deve ser atualizada constantemente para que possa

ser realmente efetiva. Desde 1947, a Organização Mundial de Saúde e órgãos oficiais, como o Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos, através de centros de monitoramento espalhados pelo mundo inteiro, organizam a vigilância global dos vírus correntemente circulantes, recolhendo e emitindo informações regularmente. Com a avaliação dos vírus circulantes, sugerem a composição antigênica das vacinas do hemisfério norte e sul, usando as linhagens mais prováveis de circular no próximo período. É de extrema importância que a seleção seja realizada com a máxima acurácia para que a vacina possa funcionar com a eficácia desejada.

A produção da vacina contra a influenza deve seguir uma programação rígida para que possa ser produzida e administrada nas pessoas antes do início do período de maior incidência da influenza - entre o final do outono e início do inverno. Ao mesmo tempo, não podem ser produzidas com grande antecedência, para permitir que os vírus circulantes possam ser detectados e incluídos na formulação. Vários meses são necessários para a produção da vacina, incluindo o período de seleção, rearranjo e adaptação dos vírus escolhidos, a produção das vacinas monovalentes e formulação final polivalente, os testes analíticos de qualidade e, por fim, a liberação, distribuição e administração da vacina na população. A produção leva entre 6 e 8 meses, e deve se completar entre outubro e dezembro no hemisfério norte, e entre abril e julho no hemisfério sul.

### NOVAS ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINAS CONTRA INFLUENZA

Além do aperfeiçoamento dos processos utilizados atualmente na produção de vacinas contra influenza, novas técnicas visam implantar avanços biotecnológicos na busca de formulações mais eficazes e abrangentes. Vetores de expressão (como, por exemplo, baculovírus) contendo os genes que codificam as proteínas HA e NA são empregados na produção de proteínas recombinantes como antígenos vacinais; a primeira vacina produzida em células de mamífero

foi licenciada pelo FDA em novembro de 2012, e a produzida em células de insetos, em janeiro de 2013. Partículas semelhantes às virais ou VLPs (do inglês, "Virus-like Particles") não infecciosas, mas contendo antígenos-chave, foram imunogênicas em estudos com animais. Vacinas de DNA, estimulando mecanismos humorais e celulares, estão sendo testadas, por serem relativamente fáceis e baratas de serem produzidas. Além disso, esforços estão sendo dirigidos às chamadas "vacinas universais", que apresentariam efeitos protetores mais abrangentes e duradouros contra diversas linhagens do vírus influenza, reduzindo a necessidade de uma nova imunização a cada ano. Essa abordagem se baseia no direcionamento da resposta contra regiões mais conservadas dos vírus, como a região da haste da HA e as proteínas de matriz e de canais iônicos. Vírus modificados como o MVA (uma forma modificada e atenuada do vírus vaccínia), carregando esses antígenos conservados são empregados para a produção desse tipo de vacina. O uso de adjuvantes também vem sendo aprimorado, visando à melhoria e o aumento da duração das respostas imunológicas induzidas assim como a diminuição da quantidade do antígeno necessário para essa resposta, possibilitando uma maior quantidade de doses produzidas sem o aumento do parque fabril.

### PRODUÇÃO DE VACINAS NO BRASIL

Em 1999, o Ministério da Saúde do Brasil decidiu fornecer a vacinação gratuita contra a gripe para idosos acima de 60 anos, pacientes com doenças crônicas e profissionais de saúde e, desde então, vem realizando campanhas anuais de vacinação. O Instituto Butantan, ligado à Secretária da Saúde do Estado de São Paulo, foi indicado para produzir as 25 milhões de doses anuais da vacina sazonal necessárias na época. Para alcançar este objetivo, realizou uma parceria com o laboratório francês Sanofi-Pasteur, que, inicialmente, forneceria a vacina em granel e depois realizaria a transferência da tecnologia de produção da vacina sazonal fragmentada inativada. Foi instalada uma planta de produção

para o processamento de 125.000 ovos por dia, para a produção da vacina sazonal trivalente não adjuvantada, e uma planta piloto de menor capacidade, para o treinamento de pessoal, produção de lotes experimentais e produção de eventuais vacinas pandêmicas. Além disso, o Instituto Butantan pesquisa a utilização do MPLA (Monofosforil lipídio A), um subproduto da vacina pertussis, como um potencial adjuvante da vacina contra a influenza, que diminuiria bastante a necessidade de antígeno necessário para uma resposta imune adequada à vacina.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser uma vacina bem aceita e de produção estabelecida, a vacina contra a influenza ainda enfrenta uma série de desafios. Sendo a influenza causada por um vírus com alta capacidade de recombinação e com hospedeiros naturais espalhados pelos mais diversos ambientes, é ilusório acreditar que a doença possa ser eliminada. Ao contrário das vacinas que pretendem erradicar seus patógenos, a vacina contra a influenza visa controlar a doença, reduzindo a incidência de complicações mais sérias e mortes resultantes da infecção, assim como diminuir a abrangência e gravidade de futuras pandemias. O aprimoramento dos sistemas de vigilância é extremamente necessário para que o monitoramento dos vírus circulantes seja feito com precisão, particularmente em países em desenvolvimento, onde frequentemente essas informações são negligenciadas. Esses dados são importantes não somente para o preparo das vacinas sazonais, mas também para a descoberta de eventuais linhagens emergentes altamente patogênicas ou de potencial pandêmico, que exijam uma rápida reação. Por último, apesar da capacidade produtiva mundial da vacina contra a influenza ser de mais de 800 milhões de doses, a grande maioria dos produtores está concentrada em poucos

países. É um desafio não somente aumentar o número de doses produzidas e pessoas imunizadas, mas também melhorar a distribuição das unidades produtoras ao redor do planeta, para que a influenza possa ser efetivamente controlada e traga menos prejuízos econômicos e à saúde da população mundial.

## REFERÊNCIAS

1. Almeida FA, Berezin EN, Farhat CK, Cintra OA, Stein RT, Burns DAR, Arns CC, Lomar AV, Toniolo Neto J, Medeiros R (2009) Consenso para o Tratamento e Profilaxia da Influenza (Gripe) no Brasil. Sociedade Brasileira de Pediatria (SBM). [http://www.sbp.com.br/PDFs/consenso\\_influenza.pdf](http://www.sbp.com.br/PDFs/consenso_influenza.pdf)
2. Brasil. Ministério da Saúde. 2013. Influenza humana: perguntas e respostas. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=31244](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31244). Acessado em 29 de julho de 2013.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2013) Seasonal influenza (Flu). Disponível em: <http://www.cdc.gov/flu/index.htm>. Acessado em 29 de julho de 2013.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2013) Influenza activity – United States, 2012-13 season and composition of the 2013-14 influenza vaccine. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, Jun 14: 62(23): 473-79. Acessado em 29 de julho de 2013.
5. Fiore AE, Bridges CB, Katz JM, Cox NJ (2012) Inactivated influenza vaccines. *In: Vaccines*. 6ª edição. Plotkin S, Orenstein W, Offit P (eds). Elsevier Saunders, Filadélfia, EUA, 257-293.
6. Food and Drug Administration (2013) FDA approves new seasonal influenza vaccine made using novel technology. Disponível em: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm335891>. Acessado em 29 de julho de 2013.
7. Food and Drug Administration (2012) FDA approves first seasonal influenza vaccine manufactured using cell culture technology. Disponível em: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm328982.htm>. Acessado em 29 de julho de 2013.
8. Jang YH, Seong BL (2012) Principles underlying rational design of live attenuated influenza vaccines. *Clin Exp Vaccine Res* 1(1): 35-49.
9. Luke, CJ, Lakdawala, SS, Subbarao, K (2012) Influenza vaccine – live. *In: Vaccines*. 6ª edição. Plotkin S, Orenstein, W, Offit P (eds). Elsevier Saunders, Filadélfia, EUA, 294-311.
10. Miyaki C, Meros M, Precioso AR, Raw I (2011) Influenza vaccine production for Brazil: a classic example of successful North-South bilateral technology transfer. *Vaccine* 29 Suppl 1:A12-5.
11. Nature. 2013. Nature Reviews Microbiology – Focus on Influenza. Índice disponível em: <http://www.nature.com/nrmicro/focus/influenza/>. Acessado em 29 de julho de 2013.
12. Organização Mundial da Saúde. 2013. Influenza. Global influenza programme. Disponível em: <http://www.who.int/influenza/en/>. Acessado em 29 de julho de 2013.
13. Organização Mundial da Saúde. 2013. A description of the process of seasonal and H5N1 influenza vaccine virus selection and development. Disponível em: [http://www.who.int/influenza/resources/documents/influenza\\_vaccine-virus\\_selection/en/](http://www.who.int/influenza/resources/documents/influenza_vaccine-virus_selection/en/). Acessado em 29 de julho de 2013.
14. Organização Mundial da Saúde. 2013. WHO position paper on Influenza vaccines. Disponível em: <http://www.who.int/influenza/vaccines/en/>. Acessado em 29 de julho de 2013.
15. Quintilio W, Kubrusly FS, Iourtov D, Miyaki C, Sakauchi MA, Lúcio F, Dias S C, Takata CS, Miyaji EN, Higashi HG, Leite LC, Raw I (2009) *Bordetella pertussis* monophosphoryl lipid A as adjuvant for inactivated split virion influenza vaccine in mice. *Vaccine* 27(31): 4219-4224.

# AVANÇOS NA PESQUISA DE VACINAS CONTRA A PARACOCCIDIOIDOMICOSE



**Bruna Cristina Favoretto<sup>1</sup>; Erica Akemi Kavati<sup>2</sup>; Maria Elizabeth Sbrogio-Almeida<sup>3</sup>; Luís Carlos de Sousa Ferreira<sup>3</sup>; Carlos Pelleschi Tabora<sup>3,4</sup>; Milene Tavares Batista<sup>3</sup>**

1 - Instituto Butantan, Laboratório de Imunopatologia

2 - Instituto Butantan, Laboratório de Genética

3 - Instituto de Ciências Biomédicas – Departamento de Microbiologia, Universidade de São Paulo

4 - Laboratório de Micologia Medica LIM/53 - IMTSP – Universidade de São Paulo

## PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Paracoccidiodomicose (PCM) é uma micose sistêmica, causada classicamente pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, que promove predominantemente uma doença inflamatória crônica granulomatosa. Porém, também é possível observar a doença na forma aguda ou subaguda principalmente em crianças e adolescente.

A PCM foi descrita primeiramente por Adolfo Lutz, em 1908, ao estudar o caso de dois pacientes em São Paulo. É uma doença endêmica na América Latina, tendo maior incidência no Brasil onde são diagnosticados cerca de 80% dos pacientes. Fora do Brasil, importantes focos de PCM são encontrados na Colômbia, Venezuela e Equador.

Em estudos recentes, baseado em análises de variabilidade genética, foi proposta a existência de 3 grupos filogenéticos distintos, sendo eles: S1 - grupo parafilético com 38 isolados da Argentina, Brasil, Peru e Venezuela e 1 isolado de pinguim da Antártida; PS2 - grupo monofilético com 6 isolados, sendo 5 do Brasil e 1 da Venezuela; PS3 - grupo monofilético com 21 isolados da Co-

lômbia (24). Posteriormente, sete outros isolados que não estavam presentes nos estudos anteriores, foram analisados e agrupados nos clados S1 e PS3, porém, o isolado Pb01 ficou separado dos outros grupos, na base do cladograma (7). Estima-se que o grupo monofilético Pb01-like foi separado dos grupos S1, PS2 e PS3 a aproximadamente 30 milhões de anos atrás. Baseados nestes dados, foi proposta uma nova classificação para os isolados Pb01-like, colocando-os como uma nova espécie dentro do gênero, denominada *Paracoccidioides lutzii*. O grupo Pb01-like é endêmico nas regiões Norte e Centro-Oeste do Brasil (Rondônia, Mato Grosso e Goiás) e compartilha algumas áreas geográficas com o grupo S1 (37).

Mortes causadas por micoses sistêmicas, tais como paracoccidiodomicose, criptococose, histoplasmose, candidíase, aspergilose, coccidiodomicose e zigomicose somaram 3.583 entre 1996-2006 no Brasil, sendo paracoccidiodomicose a mais importante causa de mortes entre micoses sistêmicas, cerca de 51,2% (27). A maior incidência dessa doença em homens é explicada pela proteção conferida às mulheres pelo hor-

mônio estrogênio, que inibe a transformação dos fungos da fase micelial para leveduras, interferindo na patogenicidade do fungo (19, 35).

É sugerido que *P. brasiliensis* tenha prevalência nos estados do Sudeste e Sul do Brasil, principalmente nos Estados de São Paulo e do Paraná, enquanto o *P. lutzii* estaria associado aos casos de PCM detectados nos estados do Centro-Oeste e Norte (9, 21, 38)

O *Paracoccidioides* spp. é um fungo termodimórfico, ou seja, apresenta-se na forma de bolor a temperatura ambiente (25° C) e levedura quando patogênica (37°C) (28). A infecção do hospedeiro ocorre mais frequentemente pela inalação de conídios que alcançam os alvéolos pulmonares, transformando-se em leveduras. Embora a aquisição do fungo resulte tipicamente em infecções assintomáticas, indivíduos imunossuprimidos podem progredir para um quadro clínico crônico onde o fungo dissemina-se para os demais tecidos como baço e fígado. O contato do patógeno com o tecido do hospedeiro desencadeia inicialmente reação inflamatória com a presença de neutrófilos e posteriormente macrófagos formando-se os granulomas para conter

a infecção impedindo sua multiplicação e disseminação pelos tecidos. Lesões cutâneas também podem ocorrer (16).

### PCM versus SISTEMA IMUNE

A imunidade contra o *Paracoccidioides* spp. se inicia com células do sistema imune inato como neutrófilos e macrófagos que desencadeiam uma resposta inflamatória. Células dendríticas também têm um importante papel formando um elo entre a imunidade inata e adaptativa. Receptores presentes na superfície de células fagocíticas, como por exemplo os receptores do tipo *Toll* (TLR- Toll Like Receptor) e receptores de lectinas tipo C (CLR – C-Type Lectin Receptors) que reconhecem padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs - Pathogen-Associated Molecular Patterns). Essas interações com moléculas do patógeno ativam a cascata de sinalização intracelular que modula a ativação destas células e consequentemente polarizam a imunidade adquirida.

O principal componente antigênico do *P. brasiliensis* é uma glicoproteína secretada e também encontrada na superfície da parede fúngica de 43 kDa (gp43), um antígeno imunodominante associado ao fator de virulência e/ou escape pelo qual o fungo evade os mecanismos de defesa do hospedeiro e se instala nos tecidos (18).

A ativação de linfócitos T CD4<sup>+</sup> Th1 é dependente de moléculas co-estimuladoras e o reconhecimento do peptídeo associado a moléculas MHC (Major Histocompatibility Complex), bem como a secreção de IL-12 pelas células dendríticas. Essas células Th1 sintetizam citocinas, como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  que aumentam a capacidade microbicida dos macrófagos e promovem as reações granulomatosas, evitando a disseminação do fungo conferindo proteção ao hospedeiro. Porém, a produção de TNF- $\alpha$  pelas células fagocíticas induz uma produção exacerbada de metabólitos intermediários do oxigênio e colagenases levando a lesões teciduais e o desenvolvimento da doença.

Os indivíduos saudáveis podem resolver a infecção local por meio de uma resposta imune inata eficiente e do desenvolvimento do padrão de res-

posta Th1. Em contrapartida, a maioria das formas clínicas da doença ocorre pela incapacidade de desenvolvimento dessa resposta efetiva Th1, impedindo assim a formação de granulomas. Neste caso pode ocorrer o desvio para outros padrões de respostas imunológicas que não conseguem conter a infecção, como o padrão Th2, envolvido com a secreção de IL-4, IL-5 e TGF- $\beta$ , além de intensa eosinofilia. Ocorre a produção de anticorpos das classes IgG4, IgA e IgE, porém esta resposta imune humoral contra o fungo não é efetiva.

Pacientes com a forma crônica com gravidade moderada apresentam resposta imune intermediária entre o padrão Th1 e Th2. Indivíduos com PCM que vivem em áreas endêmicas, mas que não desenvolvem a doença apresentam padrão Th1, suprimindo a replicação fúngica e mantendo um equilíbrio entre o hospedeiro e o parasita. Por outro lado, pacientes com a forma aguda/sub aguda desenvolvem resposta Th2. A persistência da infecção latente e sua disseminação pelo organismo não são completamente esclarecidas, porém sabe-se que o fungo se desenvolveu evolutivamente para garantir sua sobrevivência no hospedeiro.

A secreção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 em linfonodos de pacientes com a forma aguda da doença, está associada ao mecanismo de evasão do sistema imune, contribuindo para a forma disseminada da doença. Além disso, a ativação excessiva de células T regulatórias com fenótipo CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (Treg) pode estar associada à susceptibilidade aos patógenos, porém essas células são de extrema importância para o controle da resposta imunológica evitando a exacerbação da resposta inflamatória e, consequentemente, ao desenvolvimento de doenças autoimunes. Nesse sentido, alguns estudos mostram que pacientes com PCM crônica apresentam níveis elevados de Tregs, tanto no sangue periférico quanto nas lesões, sugerindo que estas células podem controlar a resposta imune local e sistêmica na PCM crônica (15).

### TRATAMENTO CONTRA A PCM

O tratamento de pacientes diagnos-

ticados com PCM é baseado na quimioterapia, visto que o fungo é sensível à maioria dos antifúngicos disponíveis. O itraconazol apresenta eficiência de aproximadamente 95% dos casos, levando à cura da doença, com poucas recidivas (29), porém não é uma droga facilmente disponível nos serviços de saúde pública no Brasil. Assim, a terapia mais comumente empregada nos pacientes é a combinação de sulfametoxazol-trimetropim para os casos mais brandos. A associação dessa terapia com a anfotericina B administrada via intravenosa é indicada nos casos de pacientes em estado grave. A duração do tratamento depende da gravidade da doença e do tipo de tratamento, podendo variar de 6 a 24 meses para garantir o controle da manifestação clínica e evitar recaídas (33). Entretanto, o período prolongado do tratamento, a toxicidade da maioria dos antifúngicos, o relato de recidivas após o tratamento, a capacidade do fungo em driblar o sistema imune e instalar-se no hospedeiro e, a possibilidade do *P. brasiliensis* desenvolver resistência aos tratamentos quimioterápicos, como já descrito em fungos isolados e em casos clínicos (8, 12, 17), torna o desenvolvimento de uma vacina contra PCM de fundamental importância.

### ESTRATÉGIAS VACINAIS

Diversas estratégias vacinais estão sendo desenvolvidas, principalmente por grupos de pesquisadores brasileiros com grande destaque e relevância na área. As principais estratégias empregadas são baseadas no uso do fungo atenuado, proteínas ou peptídeos purificados, vacinas de DNA e vacinas de células dendríticas. Tais técnicas estão resumidas na Tabela 1 e serão detalhadas a seguir.

### Fungos atenuados

Alguns estudos relatam o uso de leveduras atenuadas para a avaliação da proteção em modelo murino contra o *P. brasiliensis*. A utilização de patógenos íntegros, atenuados vivos ou mortos, didaticamente representa a melhor estratégia vacinal contra diversas doenças infecciosas, pois seria aquela que mais

**TABELA 1 - PRINCIPAIS ESTRATÉGIAS VACINAIS EXPERIMENTAIS VOLTADAS PARA A PREVENÇÃO DA PCM.**

VACINA*	RESPOSTA HUMORAL	RESPOSTA CELULAR	ADJUVANTES	DIMINUIÇÃO DE CARGA FÚNGICA	REGENERAÇÃO TECIDUAL
Fungo atenuado (2,3,13,14)	Sim	Sim	Não	Sim	Não
gp43 (4,26,34)	Sim	Sim	Não	Não	Não
P10 (1,5,25,36)	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
Vacinas de DNA (10,30,31,32)	Não	Sim	Não	Sim	Sim
DCs estimuladas (20)	Não	Sim	Não	Sim	Sim
P10 + quimioterápicos (1,22,23)	Não	Sim	Sim	Sim	Sim

\* Os números entre parênteses representam referências bibliográficas

se aproxima da condição natural, porém não se trata de uma estratégia segura e eficiente para todas as doenças.

Contra a PCM, duas abordagens foram testadas em modelo animal: um isolado de *P. brasiliensis* de baixa virulência e outra de alta virulência atenuada por irradiação. Na primeira estratégia, animais resistentes e susceptíveis foram previamente imunizados com uma cepa de *P. brasiliensis* de baixa virulência, o Pb265, e em seguida desafiados com uma cepa de alta virulência, o Pb18. A infecção prévia foi capaz de proteger os camundongos susceptíveis do isolado de alta virulência, sendo efetivo na indução da resposta imune celular com ativação de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> efetivos. Foi observada a diminuição da contagem de UFCs (Unidades Formadoras de Colônia) no pulmão e no fígado dos camundongos desafiados e um aumento na reação de HTT (hipersensibilidade do tipo tardio) dependendo da rota de infecção secundária. Também foram detectados altos níveis de anticorpos IgG1 e IgG2a específicos anti - *P. brasiliensis* assim como a produção de citocinas IL-2, IL-4, IL-12 e IFN- $\gamma$  sugerindo a ativação de uma resposta imune balanceada Th1/Th2 (2, 3).

Resultados semelhantes foram observados quando camundongos susceptíveis foram imunizados com leveduras de alta virulência, Pb18, atenuadas por radiação gama que apresentavam membrana plasmática e parede celular intacta, mas com grande fragmentação do

DNA. Em seguida, os animais foram desafiados com o patógeno e a proteção foi observada pela redução de quase 100% da carga fúngica, observado em ensaios de contagem de UFCs e histologia do pulmão, fígado e baço dos animais estudados. Também foram detectados altos níveis de anticorpos IgG1 e IgG2a específicos contra *P. brasiliensis*, assim como a produção de IFN- $\gamma$ . Observou-se produção aumentada de TNF- $\alpha$  após a imunização dos animais com leveduras atenuadas, porém esses níveis diminuíram após o desafio. Houve baixa produção de IL-10 e IL-5 sugerindo a indução de uma resposta tipo Th1, mais efetiva. Porém, aparentemente o número de imunizações tem influência na resposta imune do hospedeiro. Animais que receberam uma única dose de leveduras radioatenuadas desenvolveram um padrão de resposta imune Th1/Th2, que não foi capaz de resolver a infecção, enquanto animais que receberam 2 doses de leveduras ativaram um padrão de resposta mais efetiva, Th1, eliminando os patógenos (13, 14).

#### Proteínas e peptídeos purificados

As vacinas baseadas em proteínas ou peptídeos purificados surgiram do conceito que a proteção vacinal pode ser obtida por meio da indução da resposta imune direcionada contra um único alvo.

A gp43, como antígeno imunodominante, é capaz de induzir uma forte

resposta humoral e celular. A presença de anticorpos específicos contra gp43 é encontrada em praticamente todos os pacientes infectados com o *P. brasiliensis*, porém o mesmo não é observado em pacientes infectados pelo *P. lutzii*, que demonstram uma irregularidade no reconhecimento ou na indução de uma resposta imune específica contra a gp43 (4). Por isso, diversas estratégias foram estudadas visando o uso da gp43 como candidato vacinal ou de terapias contra a PCM, porém apenas demonstraram proteção parcial frente ao desafio com o patógeno de alta virulência (26, 34).

O gene que codifica a gp43 foi sequenciado e os epitópos foram estudados como candidatos vacinais. O principal peptídeo encontrado foi o P10, sendo uma sequência composta por 15 aminoácidos, capaz de induzir uma eficiente resposta imune mediada por linfócitos T CD4<sup>+</sup> através da produção de altos níveis de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Foi observada sua eficiência na redução da carga fúngica em ensaios de contagem de UFCs e histologia de pulmão dos animais imunizados. O efeito protetor do peptídeo P10 está relacionado à capacidade de indução de uma resposta imune Th1 dependente de IFN- $\gamma$  (36) que pode ser estimulada com a associação do peptídeo a adjuvantes, aumentando a eficiência do P10 em ser reconhecido pelas células dendríticas (CDs) e, estas, em apresentar o antígeno aos linfócitos T efetores levando a uma resposta protetora (1, 5, 25). Essa estratégia tem se



mostrado bastante eficiente com resultados promissores tanto na prevenção como no tratamento da PCM.

### Vacinas de DNA

Denominadas de vacinas de terceira geração, as vacinas de DNA se baseiam na utilização da informação genética do patógeno no desenvolvimento de vacinas e terapias contras as diversas enfermidades. Alguns estudos foram publicados descrevendo essa estratégia na busca de uma vacina contra a PCM.

Utilizando modelos murinos susceptíveis à infecção por *P. brasiliensis*, foi analisada a eficácia de uma vacina de DNA contendo a sequência codificadora do peptídeo P10 tanto de forma profilática como terapêutica, isto é, geração de proteção à infecção no hospedeiro antes ou após desafio com as cepas virulentas. Foi possível observar a capacidade de redução da carga fúngica nos tecidos de animais infectados, assim como a ativação de linfócitos T efetores e de memória, altos níveis de IFN- $\gamma$  por longos períodos e a contenção do dano tecidual regulado pela ativação das células Treg (10, 32).

Outra técnica estudada foi a utilização de uma vacina de DNA contendo a sequência da proteína HSP65 de *Mycobacterium leprae*, por ser reconhecida uma importante molécula capaz de modular a resposta imune celular do hospedeiro, antes ou após a infecção dos camundongos susceptíveis à infecção pelo Pb18. Em ambos os casos foi observada a capacidade de ativação dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> através da produção de IFN- $\gamma$  e da ativação dos macrófagos como demonstrado pela presença de altos níveis de óxido nítrico. Nos animais imunizados foi observada uma redução da carga fúngica nos tecidos infectados e na produção de colágeno nos pulmões, um importante achado visto que o excesso de colágeno no pulmão está associado ao desenvolvimento da fibrose pulmonar e, conseqüente, perda da função do órgão, uma das mais graves conseqüências da PCM (30, 31).

### Vacinas de células dendríticas

As CDs são potentes estimuladores da resposta imune, principalmente pela

sua capacidade de processar e apresentar os antígenos ativando os linfócitos T através das moléculas de MHC e moléculas co-estimulatórias, induzindo uma imunidade efetiva. Diversos estudos têm sido desenvolvidos no intuito de utilizar as células dendríticas como vacinas terapêuticas contra diversas doenças.

Na PCM experimental, CDs foram retiradas de camundongos e, *in vitro*, estimuladas com o peptídeo P10 para, em seguida, serem administradas novamente aos animais doadores. Foram utilizadas duas vias de administração (subcutânea ou intravenosa). Após desafio dos animais com o Pb18 foi possível observar uma significativa redução da carga fúngica nos órgãos infectados, assim como a estimulação de uma eficiente resposta imune Th1 mediada principalmente pelos altos níveis de IFN- $\gamma$  e IL-12 e baixos níveis de IL-10 e IL-4 (20). Embora os dois protocolos de imunização com CDs tenham apresentado resultados semelhantes, a vacinação subcutânea resultou na migração de um número significativamente maior destas células para os linfonodos drenantes sendo mais eficiente em na geração de respostas do tipo Th1. Já a injeção sistêmica das CDs (intravenosa) resultou em uma migração preferencial para o pulmão, que poderia resultar em tolerância antigênica e aumento da suscetibilidade a infecções subsequentes (20).

### Associação de estratégias vacinais e terapêuticas na PCM

Na tentativa de diminuir o tempo de tratamento com quimioterápicos e aumentar a sua eficiência, alguns estudos propuseram a associação de uma vacina com propriedades terapêuticas e o tratamento com drogas antifúngicas. Estudos utilizando uma vacina contendo o peptídeo P10 associado ao tratamento com diferentes antifúngicos demonstrou que houve o estímulo de uma proteção adicional fornecida pela vacina, demonstrada pela redução da carga fúngica quando comparada ao tratamento apenas com as drogas. Além da indução da resposta imune celular com aumento nos níveis de IFN- $\gamma$  e IL-12 (22, 23).

A associação do tratamento quimioterápico também foi testada com o

peptídeo P10 revestido a nanopartículas, como a Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) – PLGA, demonstrando o aumento da eficácia terapêutica contra a PCM com redução da carga fúngica, além de reduzir o número de doses e, conseqüentemente, a concentração do peptídeo necessária para indução de uma resposta efetiva (1).

### Outras estratégias imunoterapêuticas

Diferentes estratégias terapêuticas têm sido estudadas para o tratamento da PCM, como a transferência passiva de anticorpos. Estudos em animais demonstraram que a utilização de anticorpos monoclonais contra gp70 e contra gp43 confere proteção efetiva quando administrados pós-infecção, com significativa redução da carga fúngica (6, 11).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como observado, diversas estratégias têm sido estudadas no combate à PCM. As vacinas baseadas no peptídeo P10 são promissoras pela sua capacidade de estimular uma resposta imune Th1 específica, sendo capaz de reduzir a carga fúngica além de conter os danos teciduais causados pela exacerbação da resposta mediada por células. Porém, adjuvantes devem ser utilizados para aumentar a imunogenicidade do peptídeo, assim como modular o padrão de resposta imune.

A associação de uma vacina terapêutica baseada no peptídeo P10 e drogas antifúngicas parece ser a opção mais promissora no combate a PCM, visto a baixa incidência da doença e a presença de uma população alvo específica, trabalhadores rurais. O tratamento quimioterápico em associação a uma vacina eficiente contendo o P10 atua de modo a reduzir o período do tratamento com drogas antifúngicas e altamente tóxicas aos pacientes, assim como prevenir recidivas e danos teciduais.

### REFERÊNCIAS

1. Amaral AC, Marques AF, Munoz JE, Bocca AL, Simioni AR, Tedesco AC, Morais PC, Travassos LR, Taborda CP and Felipe MS (2010)

- Poly(lactic acid-glycolic acid) nanoparticles markedly improve immunological protection provided by peptide P10 against murine paracoccidioidomycosis. *Br J Pharmacol.* 159(5): 1126-32.
2. Arruda C, Kashino SS, Fazioli RA and Calich VL (2007) A primary subcutaneous infection with *Paracoccidioides brasiliensis* leads to immunoprotection or exacerbated disease depending on the route of challenge. *Microbes Infect.* 9(3): 308-16.
  3. Arruda C, Vaz CA and Calich VL (2007) Aseptic cure of pulmonary paracoccidioidomycosis can be achieved after a previous subcutaneous immunization of susceptible but not resistant mice. *Microbes Infect.* 9(6): 704-13.
  4. Batista J, Jr., de Camargo ZP, Fernandes GF, Vicentini AP, Fontes CJ and Hahn RC (2010) Is the geographical origin of a *Paracoccidioides brasiliensis* isolate important for antigen production for regional diagnosis of paracoccidioidomycosis? *Mycoses.* 53(2): 176-80.
  5. Braga CJ, Rittner GM, Munoz Henao JE, Teixeira AF, Massis LM, Sbrogio-Almeida ME, Taborda CP, Travassos LR and Ferreira LC (2009) *Paracoccidioides brasiliensis* vaccine formulations based on the gp43-derived P10 sequence and the *Salmonella enterica* FliC flagellin. *Infect Immun.* 77(4): 1700-7.
  6. Buissa-Filho R, Puccia R, Marques AF, Pinto FA, Munoz JE, Nosanchuk JD, Travassos LR and Taborda CP (2008) The monoclonal antibody against the major diagnostic antigen of *Paracoccidioides brasiliensis* mediates immune protection in infected BALB/c mice challenged intratracheally with the fungus. *Infect Immun.* 76(7): 3321-8.
  7. Carrero LL, Nino-Vega G, Teixeira MM, Carvalho MJ, Soares CM, Pereira M, Jesuino RS, McEwen JG, Mendoza L, Taylor JW, Felipe MS and San-Blas G (2008) New *Paracoccidioides brasiliensis* isolate reveals unexpected genomic variability in this human pathogen. *Fungal Genet Biol.* 45(5): 605-12.
  8. Costa Cda S, Albuquerque FC, Andrade RV, Oliveira GC, Almeida MF, Brígido Mde M and Maranhão AQ (2005) Transporters in the *Paracoccidioides brasiliensis* transcriptome: insights on drug resistance. *Genet Mol Res.* 4(2): 390-408.
  9. Coutinho ZF, Silva Dd, Lazéra M, Petri V, Oliveira Rmd, Sabroza PC and Wanke B (2002) Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). *Cadernos de Saúde Pública.* 18: 1441-1454.
  10. de Amorim J, Magalhaes A, Munoz JE, Rittner GM, Nosanchuk JD, Travassos LR and Taborda CP (2013) DNA vaccine encoding peptide P10 against experimental paracoccidioidomycosis induces long-term protection in presence of regulatory T cells. *Microbes Infect.* 15(3): 181-91.
  11. de Mattos Grosso D, de Almeida SR, Mariano M and Lopes JD (2003) Characterization of gp70 and anti-gp70 monoclonal antibodies in *Paracoccidioides brasiliensis* pathogenesis. *Infect Immun.* 71(11): 6534-42.
  12. Del Sorbo G, Schoonbeek H and De Waard MA (2000) Fungal transporters involved in efflux of natural toxic compounds and fungicides. *Fungal Genet Biol.* 30(1): 1-15.
  13. do Nascimento Martins EM, Reis BS, Fernandes VC, Costa MM, Goes AM and de Andrade AS (2007) Immunization with radioattenuated yeast cells of *Paracoccidioides brasiliensis* induces a long lasting protection in BALB/c mice. *Vaccine.* 25(46): 7893-9.
  14. do Nascimento Martins EM, Reis BS, de Resende MA, de Andrade AS and Goes AM (2009) Mice immunization with radioattenuated yeast cells of *Paracoccidioides brasiliensis*: influence of the number of immunizations. *Mycopathologia.* 168(2): 51-8.
  15. Fortes MR, Miot HA, Kurokawa CS, Marques ME and Marques SA (2011) Immunology of paracoccidioidomycosis. *An Bras Dermatol.* 86(3): 516-24.
  16. Franco M, Peracoli MT, Soares A, Montenegro R, Mendes RP and Meira DA (1993) Host-parasite relationship in paracoccidioidomycosis. *Curr Top Med Mycol.* 5: 115-49.
  17. Hahn RC, Morato Conceicao YT, Santos NL, Ferreira JF and Hamdan JS (2003) Disseminated paracoccidioidomycosis: correlation between clinical and in vitro resistance to ketoconazole and trimethoprim sulphamethoxazole. *Mycoses.* 46(8): 342-7.
  18. Konno AY, Maricato JT, Konno FT, Mariano M and Lopes JD (2009) Peptides from *Paracoccidioides brasiliensis* GP43 inhibit macrophage functions and inflammatory response. *Microbes Infect.* 11(1): 92-9.
  19. Loose DS, Stover EP, Restrepo A, Stevens DA and Feldman D (1983) Estradiol binds to a receptor-like cytosol binding protein and initiates a biological response in *Paracoccidioides brasiliensis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 80(24): 7659-63.
  20. Magalhaes A, Ferreira KS, Almeida SR, Nosanchuk JD, Travassos LR and Taborda CP (2012) Prophylactic and therapeutic vaccination using dendritic cells primed with peptide 10 derived from the 43-kilodalton glycoprotein of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Clin Vaccine Immunol.* 19(1): 23-9.
  21. Marques-da-Silva SH, Rodrigues AM, de Hoog GS, Silveira-Gomes F and Camargo ZP (2012) Occurrence of *Paracoccidioides lutzii* in the Amazon region: description of two cases. *Am J Trop Med Hyg.* 87(4): 710-4.
  22. Marques AF, da Silva MB, Juliano MA, Travassos LR and Taborda CP (2006) Peptide immunization as an adjuvant to chemotherapy in mice challenged intratracheally with virulent yeast cells of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 50(8): 2814-9.
  23. Marques AF, da Silva MB, Juliano MA, Munhoz JE, Travassos LR and Taborda CP (2008) Additive effect of P10 immunization and chemotherapy in anergic mice challenged intratracheally with virulent yeasts of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Microbes Infect.* 10(12-13): 1251-8.
  24. Matute DR, McEwen JG, Puccia R, Montes BA, San-Blas G, Bagagli E, Rauscher JT, Restrepo A, Morais F, Nino-Vega G and Taylor JW (2006) Cryptic speciation and recombination in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis* as revealed by gene genealogies. *Mol Biol Evol.* 23(1): 65-73.
  25. Mayorga O, Munoz JE, Lincopan N, Teixeira AF, Ferreira LC, Travassos LR and Taborda CP (2012) The role of adjuvants in therapeutic protection against paracoccidioidomycosis after immunization with the P10 peptide. *Front Microbiol.* 3: 154.
  26. Pinto AR, Puccia R, Diniz SN, Franco MF and Travassos LR (2000) DNA-based vaccination against murine paracoccidioidomycosis using the gp43 gene from *paracoccidioides brasiliensis*. *Vaccine.* 18(26): 3050-8.
  27. Prado M, Silva MB, Laurenti R, Travassos LR and Taborda CP (2009) Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(3): 513-21.
  28. RESTREPO A (1978) Paracoccidioidomycosis. *Acta Med. Colomb.* 3: 33-66.

29. Restrepo A, Benard G, de Castro CC, Agudelo CA and Tobon AM (2008) Pulmonary paracoccidioidomycosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 29(2): 182-97.
30. Ribeiro AM, Bocca AL, Amaral AC, Faccioli LH, Galetti FC, Zarate-Blades CR, Figueiredo F, Silva CL and Felipe MS (2009) DNA<sub>Hsp65</sub> vaccination induces protection in mice against *Paracoccidioides brasiliensis* infection. *Vaccine.* 27(4): 606-13.
31. Ribeiro AM, Bocca AL, Amaral AC, Souza AC, Faccioli LH, Coelho-Castelo AA, Figueiredo F, Silva CL and Felipe MS (2010) HSP65 DNA as therapeutic strategy to treat experimental paracoccidioidomycosis. *Vaccine.* 28(6): 1528-34.
32. Rittner GM, Munoz JE, Marques AF, Nonsanchuk JD, Taborda CP and Travassos LR (2012) Therapeutic DNA vaccine encoding peptide P10 against experimental paracoccidioidomycosis. *PLoS Negl Trop Dis.* 6(2): e1519.
33. Shikanai-Yasuda MA, Telles Filho Fde Q, Mendes RP, Colombo AL and Moretti ML (2006) [Guidelines in paracoccidioidomycosis]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 39(3): 297-310.
34. Souza EB, Lopes JD and Almeida SR (2004) B and T cell responses elicited by monoclonal anti-idiotypic antibody (Ab2beta) mimicking gp43 from *Paracoccidioides brasiliensis*. *Clin Exp Immunol.* 137(1): 123-8.
35. Stover EP, Schar G, Clemons KV, Stevens DA and Feldman D (1986) Estradiol-binding proteins from mycelial and yeast-form cultures of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Infect Immun.* 51(1): 199-203.
36. Taborda CP, Juliano MA, Puccia R, Franco M and Travassos LR (1998) Mapping of the T-cell epitope in the major 43-kilodalton glycoprotein of *Paracoccidioides brasiliensis* which induces a Th-1 response protective against fungal infection in BALB/c mice. *Infect Immun.* 66(2): 786-93.
37. Teixeira MM, Theodoro RC, de Carvalho MJ, Fernandes L, Paes HC, Hahn RC, Mendoza L, Bagagli E, San-Blas G and Felipe MS (2009) Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. *Mol Phylogenet Evol.* 52(2): 273-83.
38. Theodoro RC, Teixeira Mde M, Felipe MS, Paduan Kdos S, Ribolla PM, San-Blas G and Bagagli E (2012) Genus *paracoccidioides*: Species recognition and biogeographic aspects. *PLoS One.* 7(5): e37694.

# VACINAS CONTRA A POLIOMIELITE: HISTÓRICO E PERSPECTIVA DE ERRADICAÇÃO



Carolina Rossi<sup>1</sup>; Kelly Amorim<sup>1</sup>, Mariana Diniz<sup>2</sup> e Luís Carlos de Souza Ferreira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>-Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Parasitologia.

<sup>2</sup>- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Microbiologia.

## INTRODUÇÃO

A poliomielite, popularmente conhecida como paralisia infantil, é uma doença infecto-contagiosa viral aguda, que afeta o sistema nervoso central, destruindo neurônios motores. Dessa forma, pode causar desde fraqueza muscular até um estado de paralisia flácida aguda. A palavra “poliomielite” vem do grego e significa “inflamação da substância cinzenta da medula espinal” (*poliós* = cinza, *myelós* = medula, e o sufixo *-itis*, que denota inflamação). Seu nome popular se deve ao fato de acometer principalmente crianças. A poliomielite, ou simplesmente pólio, pode apresentar três tipos de acometimento: pólio espinal, pólio bulbar e pólio bulboespinal. A pólio espinal é o acometimento mais comum, e é caracterizada pela paralisia que afeta os membros inferiores. A pólio bulbar, por sua vez, causa fraqueza dos músculos inervados pelos nervos cranianos, ou seja, pode causar paralisia dos músculos faciais, língua, palato e faringe. A pólio bulboespinal é uma combinação destes dois tipos de acometimento.

O agente etiológico da doença é o

poliovírus, um vírus da família *Picornaviridae*, gênero *Enterovirus* (5). Os vírus deste gênero possuem tropismo característico pelo sistema nervoso central. As células do corno anterior da medula e outros neurônios motores são seletivamente vulneráveis à infecção pelo poliovírus (1). São três os sorotipos do poliovírus: tipo 1 (PV1), tipo 2 (PV2) e tipo 3 (PV3). Todos possuem genoma de RNA com aproximadamente 7.500 bases, a partícula viral mede em torno de 30nm e tem simetria icosaédrica (**Figura 1**). Os três sorotipos podem causar paralisia flácida aguda, porém o PV1 é o isolado com maior frequência nestes casos, seguido pelo PV3. O PV2 mostra-se mais imunogênico dos três, mas a imunidade adquirida é específica para cada sorotipo. O poliovírus possui patogenicidade baixa, sendo que a grande maioria (cerca de 90%) dos casos é assintomática (3). Dentre os casos sintomáticos, a maioria se desenvolve sintomas de gripe ou gastroenterite (forma chamada de doença menor). Em 1% dos casos, a doença avança para paralisia flácida aguda, sendo chamada de doença maior. A letalidade associada à poliomielite varia

entre 2 e 10% dos casos, mas essa porcentagem pode aumentar de acordo com a forma clínica da doença (18). A gravidade dos sintomas pode aumentar com a existência de outros fatores como imunodeficiência e desnutrição.

A transmissão ocorre por via fecal-oral ou, menos comumente, por via oral-oral. A poliomielite é uma doença altamente contagiosa e, antes da existência das vacinas, ocorreram inúmeras epidemias, devido à facilidade da transmissão. Essa pode se dar de forma direta (de pessoa para pessoa), por secreções nasofaríngeas, ou de forma indireta, por ingestão de alimentos ou água contaminados (3).

Os efeitos do pólio são conhecidos desde o Egito Antigo, como demonstram documentos, em forma de pinturas, de indivíduos acometidos pelas sequelas clássicas da pólio. Porém, só em meados do século XIX que se começou a entender mais profundamente a doença. A primeira descrição clínica foi feita por Michael Underwood em 1789. Mais tarde, no século XIX, foi chamada de doença de Heine-Medin, devido às grandes contribuições dadas pelos estudos de Jakob

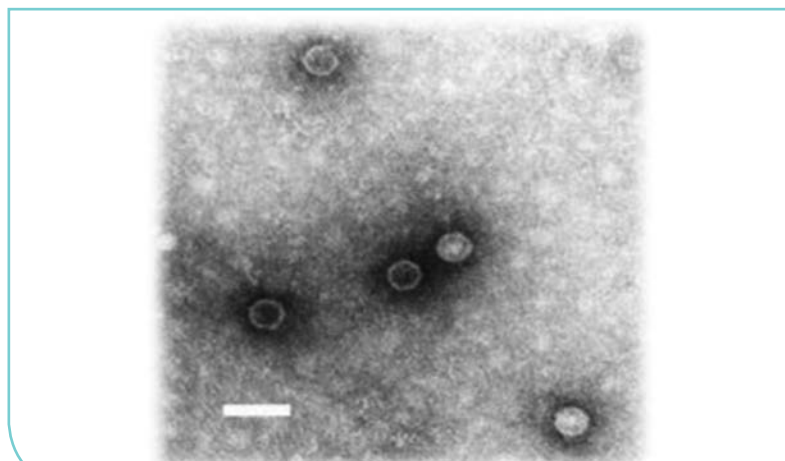
Heine (1840) e Karl Oskar Medin (1890). Já no século XX, as melhorias no saneamento básico e nas condições de vida nos países desenvolvidos fizeram com que o número de casos de pólio caísse drasticamente. Porém, muitas epidemias continuaram sendo notificadas em todo o mundo, o que gerou grandes esforços e moveu fundos para o desenvolvimento de uma vacina ou terapia.

## AS VACINAS CONTRA A POLIOMIELITE

Existem dois tipos de vacina contra poliomielite, ambas trivalentes, ou seja, protegem contra os três sorotipos virais. São elas: a IPV (do inglês "Inactivated Polio Vaccine"), feita com vírus inativado (morto) e a OPV (do inglês "Oral Polio Vaccine"), feita com vírus vivo atenuado. As duas são muito eficientes e conferem resposta imune eficaz e duradoura contra os vírus. Há no mundo diferentes calendários de vacinação envolvendo uma ou outra, ou as duas em conjunto. Adiante explicaremos as vantagens e desvantagens de cada uma, bem como o porquê de se fazer um calendário de vacinação usando os dois tipos de vacina.

### IPV (Vacina Inativada Contra a Pólio- SALK)

A vacina Salk, a primeira contra a poliomielite, foi desenvolvida por Jonas Salk em 1954, quando foi realizado um teste clínico com milhares de crianças. Os resultados deste teste foram anunciados em 1955 e considerados surpreendentes: a vacina Salk foi muito eficiente, apresentando 70% de eficácia contra o PV1 e mais de 90% de eficácia contra o PV2 e o PV3. Após estes estudos, a vacina Salk foi licenciada e as campanhas de vacinação tiveram início. A vacina foi feita a partir de vírus desenvolvidos em cultura de rins de macaco. Esses vírus foram inativados com formalina, causando a perda da patogenicidade, ou seja, capacidade de causar a doença, mas mantendo a imunogenicidade (17). Desta forma, a vacina ativa o sistema imunológico, levando à produção de uma grande quantidade de anticorpos. Tal imunidade humoral é



**Figura 1.** Poliovírus por Microscopia Eletrônica de Transmissão (Barra branca = 50 nanômetros). Créditos: F.P. Williams, U.S. EPA.

mediada principalmente por IgG encontrado na corrente sanguínea. A resposta de memória também é eficiente, o que previne a futura infecção de progredir para os neurônios motores. No entanto, logo após o início das campanhas de vacinação, um incidente foi notificado: algumas crianças vacinadas começaram a apresentar paralisia. Como o intervalo entre a vacinação e o começo da doença coincidia com o período de incubação da pólio, associou-se os casos à vacinação. A desconfiança era de que esses casos fossem causados por vírus ativos residuais. Algum tempo depois descobriu-se que todos os lotes liberados por uma empresa americana (Cutter) causaram esses problemas. É importante salientar que esse foi um problema isolado, que jamais ocorreria atualmente, quando os processos para fabricação de vacinas são extremamente rigorosos com um extenso controle de qualidade (7). Felizmente, o acidente não abalou a confiança das pessoas quanto à segurança da vacina, e a população continuou a vacinar seus filhos.

Atualmente, a primeira dose da vacina é dada logo após o nascimento, geralmente aos 2 meses de idade, e uma segunda dose é administrada aos 4 meses de idade. A data da terceira dose depende da formulação da vacina, mas deve ser administrada entre 6 e 18 meses de idade. O reforço é dado aos 4 anos de idade, e assim soma um total de quatro doses (20).

### OPV (Vacina Oral Contra a Pólio- SABIN)

A vacina Sabin foi desenvolvida por Albert Sabin, em 1958. Neste ano foi iniciado o teste em humanos, mas sua liberação só ocorreu em 1962 (12). Ela foi obtida após passagens repetidas do vírus por células não humanas a temperaturas subfisiológicas. O vírus perde a neurovirulência, mas mantém a capacidade de infectar a colonizar a luz do intestino, mantendo uma alta capacidade imunogênica. Desta forma, a vacina causa uma infecção intestinal moderada, o que leva à resposta imune intestinal com secreção de IgA. Quando a criança é vacinada o vírus vivo vacinal pode competir com o vírus selvagem na colonização da luz intestinal caso a criança se contamine com o mesmo. Além disso, as campanhas de vacinação maciças e a introdução do vírus vacinal no ambiente permite que crianças não vacinadas sejam expostas e desenvolvam imunidade ao entrarem em contato com alimentos ou água contaminados. Um fenômeno também denominado de "imunidade de grupo" por exposição natural ao vírus vacinal (13). Testes clínicos realizados na União Soviética no início dos anos 60 por Mikhail Chumakov demonstraram que a vacina Sabin era segura e eficiente na ativação da resposta imune. A vacina foi amplamente utilizada nas campanhas de vacinação pelo mundo tanto pela

facilidade de administração como pelo preço muito inferior à vacina Salk (14).

### VANTAGENS E DESVANTAGENS ASSOCIADAS À VACINA SALK

Primeiro, podemos apontar como vantagem o fato da vacina Salk ter uma termoestabilidade maior, o que facilita o transporte da vacina para os locais onde ela será administrada. Segundo, ela pode ser dada em conjunto com outras vacinas infantis, diminuindo assim a inconveniência de se tomar uma vacina injetável. No Brasil, atualmente a vacina é dada junto com a tríplice bacteriana, aos 2 e 4 meses de vida da criança. Por último e mais importante, a vacina Salk não apresenta risco de causar paralisia associada à vacina, como é o caso da vacina oral de vírus atenuado, como explicaremos mais adiante. Portanto, esta vacina, por ser feita com vírus morto, pode ser administrada a pessoas imunodeprimidas. Sobre as desvantagens da Salk, podemos apontar o fato de que é injetável, ou seja, é um método mais invasivo e que precisa de um profissional qualificado para realizar a administração. Além disso, é uma vacina cara, um empecilho para populações em países subdesenvolvidos. Por último, podemos apontar que a vacina Salk não confere

imunidade de grupo (ou de rebanho), ao contrário da OPV, como também elucidaremos mais adiante.

### VANTAGENS E DESVANTAGENS ASSOCIADAS À VACINA SABIN

A **Tabela 2** resume as vantagens e as desvantagens de se usar a vacina Sabin. Sobre as vantagens, podemos citar como a mais importante o fato de que a vacina confere resistência de grupo, como já explicado. Além disso, não necessita de seringas, agulhas ou profissionais especializados para realizar a administração. A dose da vacina é de 2 gotas, aplicadas diretamente na boca da criança. A vacina Sabin também oferece uma resposta imune mais duradoura do que a Salk. Três doses da vacina são suficientes para desencadear respostas imunes protetoras em 95% dos vacinados (10). Por último, essa vacina é muito mais barata que a primeira, tendo sido amplamente utilizada em países subdesenvolvidos (6). Sobre as desvantagens, podemos citar a perda da carga viral, seja por falhas de administração, seja por problemas como diarreia, neste caso o vírus não vai conseguir colonizar a luz intestinal. Além disso, a vacina é contraindicada para imunode-

ficientes. A vacina também é termolábil, ou seja, não resiste ao armazenamento em temperaturas elevadas. Em alguns casos, pode haver mutação dos vírus atenuados representando risco para os vacinados. Por último e mais importante, a vacina Sabin apresenta risco de paralisia associada à vacina. Apesar de representar uma porcentagem muito pequena em torno de 1/750.000, ou seja, 0,00013%.

### INTRODUÇÃO DA VACINA IPV-SALK AO CALENDÁRIO DE VACINAÇÃO

O poliovírus não possui reservatório na natureza, ou seja, seu desenvolvimento ocorre somente após a infecção de um ser humano e o vírus não sobrevive por muito tempo no meio ambiente. Portanto, a interrupção da transmissão do vírus de pessoa a pessoa, através da vacinação, é a única forma de erradicar o pólio no mundo (17). As campanhas de vacinação contra a pólio em escala global foram iniciadas a partir das décadas de 80/90. A principal vacina utilizada era a OPV, principalmente pelo baixo custo e facilidade de administração. A eficiente vacinação em massa da população fez com que a pólio fosse praticamente erradicada no mundo (**Figura 2**). Em 1988 eram estimados 350 mil casos de pólio no mundo, e em 2007, apenas 150 casos. Em 2012 foram registrados 221 casos (4).

A principal preocupação em se meter o uso da OPV é, portanto, a paralisia associada à vacina. Os sintomas clínicos das duas paralisias, tanto a causada por vírus selvagem quanto aquela causada pelo vírus vacinal, são idênticos. Estima-se que a paralisia causada pelo vírus vacinal acometa uma em cada 750 mil crianças vacinadas (9). Logo, a estratégia atualmente recomendada para a erradicação da pólio no mundo está baseada na substituição da OPV pela IPV. Uma alternativa adotada em diversos países é a implantação baseada em duas doses de IPV (aos 2 e 4 meses de vida) seguido por pelo menos 3 doses de OPV durante a infância (geralmente dos 4 aos 6 anos de idade). Dessa forma, a vacina inativada iria conferir certa resistência ao organismo, impedindo que o vírus vacinal da OPV atinja o sistema

**TABELA 1 - VANTAGENS E DESVANTAGENS ASSOCIADAS À VACINA SALK (IPV)**

Vantagens	Desvantagens
Sem risco de PAV*	Difícil administração
Imunidade constante e de longo prazo	Não confere imunidade de grupo
Recomendada para imunodeficientes	Alto custo
Combinação com outras vacinas	Menor imunidade local
Termoestabilidade	Menor imunidade intestinal

\*PAV: paralisia associada à vacina.

Adaptado de Farhat, C. K. Situação Atual da Poliomielite no Mundo OPV vs IPV.

**TABELA 2 - VANTAGENS E DESVANTAGENS ASSOCIADAS À VACINA SABIN (OPV)**

Vantagens	Desvantagens
Fácil administração	PAV* (imunizados e contatos)
Baixo custo	Falhas vacinais
Imunidade local e humoral	Perda da carga viral
Imunidade intestinal	Contra indicada para imunodeficientes
Imunidade de grupo	Termolábil

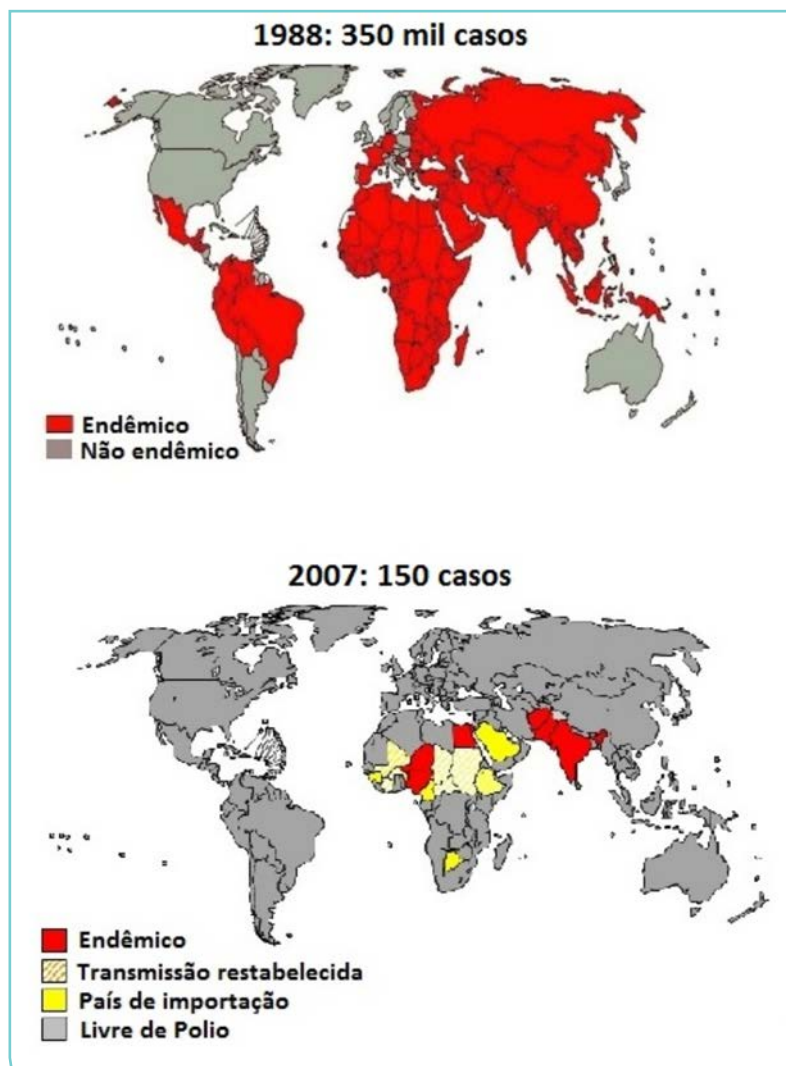
\*PAV: paralisia associada à vacina.

Adaptado de Farhat, C. K. Situação Atual da Poliomielite no Mundo OPV vs IPV.

nervoso, mantendo apenas a infecção moderada no intestino. O importante neste calendário seria manter a alta imunidade conferida pela vacina oral, além da imunidade de rebanho que a mesma desencadeia (10). De fato, diversos países considerados livres da pólio adotam apenas a IPV em seus calendários de vacinação. O uso da vacina OPV foi banido nos Estados Unidos em 2000, e em 2004 no Reino Unido, mas a vacina ainda continua a ser usada em diversos países, como o Brasil, devido ao custo e a proteção conferida (20).

## CONCLUSÃO

Graças à grande eficiência das duas vacinas, OPV e IPV, a poliomielite foi erradicada na maioria dos países do mundo. O fato de ainda existir países endêmicos para essa doença se deve há vários motivos entre eles a não aceitação de vacinas por parte da população dessas regiões, seja por aspectos sociais, culturais ou religiosos. Porém, para que a pólio seja definitivamente erradicada e se evite inclusive os casos de paralisia associada à vacina, será necessário fazer uma modificação no calendário de vacinação nos lugares onde atualmente apenas a vacina oral é empregada. O ideal, como foi mostrado em alguns estudos recentes, seria criar um calendário com as duas vacinas associadas, como é feito no Brasil desde 2012. A ideia é que a vacina oral seja retirada do calendário nos próximos anos, impedindo o surgimento de casos de paralisia causada por vírus vacinal. Os programas de vacinação contra a poliomielite pelo mundo foram extremamente eficientes na redução dos casos da doença. A pólio, atualmente, está quase erradicada, como foi mostrado nesta revisão. Muito se conseguiu desde que a OPV e a IPV começaram a ser usadas. Além disso, muito se investiu nas campanhas de vacinação contra a pólio, desde o esforço da mídia para conscientização da população até o investimento em infraestrutura e capacitação profissional. Porém, ainda há trabalho a ser feito para que a erradicação da doença possa finalmente ocorrer. Neste sentido, a manutenção de um calendário rígido de vacinação deve ser mantido em todo mundo.



**Fig. 2.** Evolução dos casos de poliomielite no mundo. Em 2012, a Índia deixou de ser um país endêmico, e apenas três países ainda possuem a doença em forma endêmica atualmente: Nigéria, Paquistão e Afeganistão. Adaptado de Farhat, C. K. *Situação Atual da Poliomielite no Mundo OPV vs IPV*.

## REFERÊNCIAS

1. Atkinson W, Hamborsky J, McIntyre L, Wolfe S (2009) *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*. (The Pink Book) (11th ed.). Washington DC: Public Health Foundation. 231–244.
2. Campos ALV, Nascimento DR, Maranhão E (2003) A história da poliomielite no Brasil e seu controle por imunização. *História, Ciências, Saúde- Manguinhos*, vol. 10 (2): 573-600.
3. CVE. Poliovirus/Poliomielite. Disponível em

<http://www.cve.saude.sp.gov.br>.

4. Farhat CK, Carvalho ES, Weckx LY, Carvalho HFR, Succi RCM (2000) *Imunizações – Fundamentos e prática*. São Paulo: Ed Atheneu; 4 ed.
5. Enders JF, Weller TH, Robbins FC (1949) Cultivation of the Lansing Strain of Poliomyelitis Virus in Cultures of Various Human Embryonic Tissues. *Science* 109 (2822): 85-87.
6. Griffiths UK, Botham L, Schoub BD (2006) The cost-effectiveness of alternative polio immunization policies in South Africa. *Vaccine* 24 (29): 5670–5678.

7. Hinman AR, Thacker SB (1995) Invited Commentary on *The Cutter incident: poliomyelitis following formaldehyde-inactivated poliovirus vaccination in United States during the spring of 1955. II Relationship of Poliomyelitis to Cutter vaccine*. *Am J Epidemiol*, vol. 142(2): 107-108.
8. Kew OM, Sutter RW, de Gourville EM, Dowdle WR, Pallansch MA (2005) Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication. *Annu Rev Microbiol* 59: 587–635.
9. Kohler KA, Banerjee K, Gary Hladly W, Andrus JK, Sutter RW (2002) Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in India during 1999: decreased risk despite massive use of oral polio vaccine. *Bull World Health Organ* 80 (3): 210–216.
10. Modin JF, Halsey NA, Thoms ML, Meschivtz CK, Patriarca PA (1997) Humoral and Mucosal Immunity in Infants Induced by Three Sequential Inactivated Poliovirus Vaccine-Live Attenuated Oral Poliovirus Vaccine Immunization Schedules. Baltimore Area Polio Vaccine Study Group. *J Infect Dis* 175(1): 8228-8234.
11. Offit PA (2007) *The Cutter Incident: How America's First Polio Vaccine Led to the Growing Vaccine Crisis*. Yale University Press. p. 38.
12. Sabin AB, Bouger LR (1973) History of Sabin attenuated poliovirus oral live vaccine strains. *J Biol Stand* 1 (2): 115–118.
13. Sabin AB, Ramos-Alvarez M, Alvarez-Amezquita J, Pelon W, Michaels RH, Spigland I, Koch MA, Barnes JM, Rhim JS (1960) Live, orally given poliovirus vaccine. Effects of rapid mass immunization on population under conditions of massive enteric infection with other viruses. *JAMA* 173 (14): 1521–1526.
14. Sabin AB (1987) Role of my cooperation with Soviet scientists in the elimination of polio: possible lessons for relations between the U.S.A. and the USSR. *Perspect Biol Med* 31 (1): 57–64.
15. Shimizu H, Thorley B (2006) *Poliomyelitis Eradication: Field Guide*. Washington: Pan American Health Organization. 92-75-11607-5.
16. Smith JS (1990) *Patenting the Sun: Polio and the Salk Vaccine*. William Morrow & Co.
17. Von Magnus H, Petersen I (1984) Vaccination with inactivated poliovirus vaccine and oral poliovirus vaccine in Denmark. *Rev Infect Dis* 6 (2): 471–474.
18. WHO (2007) What is vaccine-derived polio?
19. WHO (2009) Second Meeting of the SAGE Working Group on IPV. Geneva: WHO.
20. WHO (2012-2013) Global eradication emergency action plan.



# UMA VACINA EFICAZ CONTRA A TUBERCULOSE: BCG OU NOVAS ESTRATÉGIAS VACINAIS



Mariana de Jesus Cintra, Natiely Silva Sales, Luís Carlos de Souza Ferreira,  
Wilson Barros Luiz

Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Microbiologia,  
Laboratório de Desenvolvimento de Vacinas.

## O BACILO DE CALMETTE E GUÉRIN (BCG)

Robert Koch postulou a relação da bactéria *Mycobacterium tuberculosis* com a doença em 1882, sua descoberta levou a inúmeras linhas de pesquisa para estabelecer medidas profiláticas contra a tuberculose. O desenvolvimento da vacina BCG foi feita, com algumas ressalvas, dentro de uma estrutura de pensamentos e práticas influenciadas pela vacinação contra a varíola por Edward Jenner (1796). Em 1908 Albert Calmette e Camille Guérin, Instituto Pasteur (França), começaram a trabalhar com uma cepa virulenta de *M. bovis* que tinha sido isolado por Edmond Nocard a partir de uma vaca com mastite tuberculosa. Em 1921, após 13 anos de passagens sucessivas *in vitro*, realizadas a cada três semanas, algo em torno de 230 passagens, os pesquisadores descobriram que a cultura resultante era estável à reversão da virulência, e ainda capaz de conferir proteção em diversas espécies de animais. Neste mesmo ano a primeira vacinação humana utilizando esta estirpe atenuada, nomeada como

bacilo de Calmette e Guérin (BCG), foi administrada a um recém-nascido em Paris, cuja avó tinha tuberculose pulmonar, e sua aplicação generalizada foi recomendada pela Liga das Nações em 1927.

A bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) acomete cerca de um terço da população mundial, mas a grande maioria não desenvolve a doença tuberculose (TB), que atualmente representa a segunda maior causa de mortalidade por doenças infecciosas no mundo por um único agente etiológico, com aproximadamente 1,5 milhões de mortes e 8,8 milhões de novos casos a cada ano (15, 36). A incidência da doença é maior em países em desenvolvimento, centros urbanos e locais com alta prevalência de infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), uma vez que indivíduos imunossuprimidos não conseguem controlar a infecção da mesma maneira que a maioria dos indivíduos saudáveis (12,36). No Brasil são 70 mil casos novos por ano, ocupando a quarta posição em mortalidade por doenças infecciosas (24).

O controle da morbidade e, sobre-

tudo, da mortalidade por TB é possível com medidas terapêuticas, que incluem uma combinação de drogas administradas em duas fases por um período que pode variar de 6 a 9 meses, seguido de manutenção do tratamento por um período monitorado que pode perdurar por até de 5 anos (34, 35). É possível com essas medidas eliminar o patógeno (o bacilo *Mycobacterium tuberculosis*), contudo o hospedeiro pode ainda apresentar reinfecções exógenas, o que demonstra uma incapacidade do sistema imunológico em gerar uma resposta protetora eficiente. Além disso, é comum a melhora do quadro clínico já na primeira fase do tratamento (2 meses após o início do mesmo) ou o aparecimento de algumas reações adversas no percurso, como enjoos, vômitos, indisposição, mal estar em geral e até mesmo, embora menos frequente, hepatotoxicidade, acúfeno e neuropatia (11).

Embora a terapia seja eficaz, o abandono ao tratamento por diferentes motivos favoreceu o surgimento de linhagens multirresistentes (MDR-TB, do inglês: *multi-drug-resistant tuberculosis*). Só em 2011 foram 630 mil novos casos em todo

o mundo, inclusive com o surgimento da linhagem de *M. tuberculosis* (*Mtb*) extensivamente multirresistente, a qual é uma forma de MDR-TB que responde a um número ainda menor de medicamentos disponíveis, incluindo drogas injetáveis de segunda linha (36, 14). Assim, o sucesso do tratamento está pautado em uma tríade, que inclui o diagnóstico precoce, fornecimento de tratamento padronizado e o monitoramento dos pacientes ao longo do tratamento (39). Para isto, é necessário o compromisso político, com financiamento adequado e sustentável amparado pelas agências de promoção da saúde. Na última década, o Brasil demonstrou que embora tenha sido difícil diminuir a incidência anual de novos casos de TB, foi possível reduzir a mortalidade em aproximadamente 23% (2001-2010), alcançando os índices sugeridos pelo Plano Global para o Combate à Tuberculose da Organização Mundial da Saúde (OMS) (35, 36).

A única medida profilática disponível é uma vacina administrada em recém-nascidos, utilizada principalmente em países com alto risco de contágio. A vacina foi formulada no início do século XX, e consiste do Bacilo Calmette-Guerin (BCG), uma cepa atenuada de *M. bovis*. No Brasil, a vacinação BCG foi instituída em 1925, e até 1973 foi usada por via oral e desde então pela via intradérmica, segundo determinação do Ministério da Saúde (MS). A eficácia da BCG é controversa, apesar de apresentar níveis de proteção variados (0 – 80%) contra a tuberculose pulmonar em adultos (variação atribuída em parte a diferenças na composição genética das cepas de BCG utilizadas ao redor do mundo), promove

proteção eficaz contra a tuberculose sistêmica, sobretudo em neonatos (11,21). Em geral, acredita-se que a BCG não é capaz de prevenir a infecção crônica e proteção contra a tuberculose pulmonar em adultos (27).

Curiosamente, mais de 3,5 bilhões de pessoas já foram imunizadas com BCG, conferindo o status de vacina mais administrada em todo o mundo (13). O fato é que sabemos ainda muito pouco sobre a imunidade requerida para o controle do *Mtb*, dos mecanismos moleculares e imunológicos envolvidos com a BCG e sobre o direcionamento adequado da resposta imune protetora e reativação da infecção latente (27). Além de toda a pesquisa básica envolvida, os ensaios clínicos realizados nos últimos anos têm apontado alguns direcionamentos interessantes. Esse conjunto de resultados gerou informações que possibilitam o desenvolvimento de uma ou mais vacinas de forma mais racional, tanto com características profiláticas como terapêuticas.

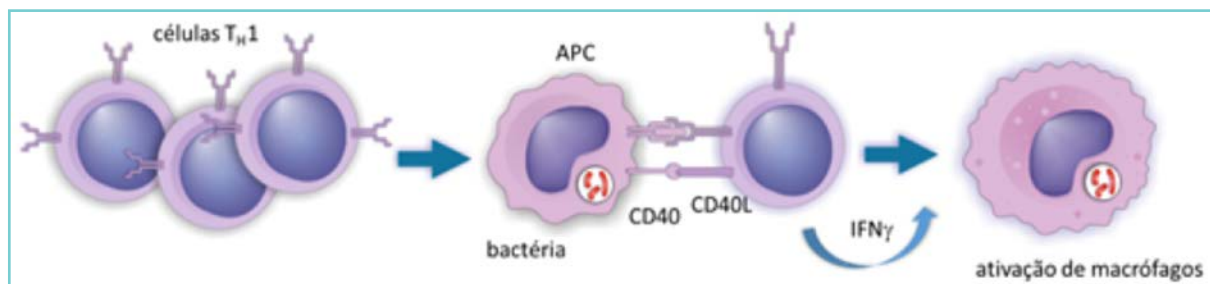
#### RESPOSTA IMUNE ASSOCIADA À DOENÇA

O *Mtb* é um patógeno intracelular de macrófagos (33,20). Após fagocitar o patógeno, em 90 – 95% dos casos, o sistema imune do hospedeiro consegue controlar a infecção pela erradicação dos agentes infecciosos ou mantendo-os em estado de latência, no qual não há prejuízos ao organismo. Porém, nesse último caso, o hospedeiro se torna um reservatório de transmissão do bacilo. Em 5 a 10% dos casos, geralmente em indivíduos imunocomprometidos,

ocorrem a reativação da infecção ou o desenvolvimento da doença. Nesses casos, o patógeno se replica no interior dos macrófagos, prejudicando a fusão do fagossomo ao lisossomo (9, 11).

A resposta imunológica esperada de uma vacina eficaz contra a TB seria aquela mediada por linfócitos T CD4<sup>+</sup> de perfil Th1, uma vez que a secreção de INF- $\gamma$  é capaz de ativar macrófagos com maior eficiência, aumentando seu poder fagocítico e bactericida (Figura 1) (1, 17). A BCG é eficaz em induzir uma resposta imunológica mediada por linfócitos T CD4<sup>+</sup> de perfil Th1, porém a resposta de memória induzida é de curta duração, uma vez que experimentos demonstraram que 24 meses após a vacinação, os níveis de INF- $\gamma$ , caracterizando a ativação das células T CD4<sup>+</sup>, decaem a níveis semelhantes a de indivíduos não vacinados (30). Os motivos para esse padrão de resposta com memória imunológica de curta duração ainda não estão esclarecidos.

Por ser um patógeno intracelular, uma resposta imunológica mediada por anticorpos contra o *Mtb* teria papel menos relevante na proteção. Já uma resposta mediada por linfócitos T CD8<sup>+</sup> seria adequada ao controle de um patógeno de replicação intracelular, porém respostas citotóxicas são difíceis de ser obtidas com vacinas convencionais, pois exigem a expressão de antígenos de forma endógena (produção intracelular por parte de células apresentadoras de antígenos). Assim, novas estratégias vacinais que consigam induzir respostas imunológicas mediadas por linfócitos T CD8<sup>+</sup> e T CD4<sup>+</sup> de perfil Th1 de longa duração seriam consideradas mais eficazes que a BCG (1, 19).



**Figura 1** - Linfócitos T CD4<sup>+</sup> que se diferenciam em células Th1 capazes de secretar IFN- $\gamma$  que, por sua vez, ativa macrófagos e outras células fagocíticas para aumentar a capacidade de fagocitose e destruição de microrganismos. APC: células apresentadoras de antígenos.

## DESENVOLVIMENTO DE NOVAS ESTRATÉGIAS VACINAIS

A eficácia de uma vacina depende do conhecimento sobre os mecanismos de proteção contra o patógeno (Figura 2). Vacinas racionalmente desenhadas são constituídas de antígenos passíveis de serem reconhecidos pelo sistema imunológico e desencadear respostas imunológicas adequadas. Adjuvantes podem contribuir para a potencialização da resposta e polarizar respostas com perfil imunológico adequado para o controle do patógeno. De forma semelhante, o emprego de sistemas de entrega (“delivery”) vacinais podem aumentar a eficiência da vacina. O número de doses e a rota de imunização utilizada também são fatores fundamentais que pode contribuir para uma proteção mais efetiva. Além disto, a busca de antígenos expressos durante a fase de latência da infecção poderia levar à erradicação do microrganismo do hospedeiro evitando com isto a reativação endógena da doença (18).

Modelos animais utilizados para os testes de candidatos vacinais devem apresentar a melhor relação custo-benefício (3, 28). Esse último ponto constitui uma das principais dificuldades no desenvolvimento de novas estratégias vacinais, uma vez que dentre os modelos animais mais utilizados atualmente (camundongos, cobaias, bovinos e primatas não-humanos), nem todos conseguem reproduzir as mesmas características da TB, tais como estado de latência e, portanto, formação de granulomas pulmonares (aglomerados de macrófagos e bactérias). O modelo que cobre com mais eficiência essas características, o primata não-humano, é o mais custoso, dificultando o desenvolvimento de estratégias vacinais seguras e eficazes que possam ser testadas em humanos (8).

Algumas abordagens vacinais contra a TB conseguiram superar as dificuldades iniciais apresentadas e se encontram em diferentes fases de teste clínico. Dentre as abordagens profiláticas, que visam proteger os indivíduos da doença (Tabela 1). Aquelas que se baseiam em vetores virais como sistemas de entrega utilizando o vírus vaccinia



Figura 2 - Fatores envolvidos no desenvolvimento de vacinas. Adaptado de Cayabyab et al., 2012.

Ankara modificado (MVA), o qual possui baixa eficiência de replicação em humanos e, portanto, de emprego seguro. O vetor, chamado MVA85A, expressa como antígeno a subunidade A da proteína imunodominante 85 (85 A) do *M. bovis* (23). Essa estratégia se encontra atualmente em ensaio clínico fase II. Outras duas vacinas em testes clínicos estão baseadas em adenovírus de diferentes sorotipos e utilizam o antígeno 85 A (Ad5Ag85A – fase I) e uma combinação dos antígenos 85 A e 85 B (AERAS-402/CRUCCELL – fase II). Esta última vacina tem o objetivo de ser utilizada como reforço para a BCG (2, 33).

Dentre as estratégias baseadas em proteínas purificadas (vacinas de subunidade) está a ID93 que consiste na fusão de quatro proteínas do *Mtb* administrada com o adjuvante GLA-SE, um ligante do receptor de imunidade inata (TLR4). Essa estratégia se encontra em teste clínico de fase I (4, 5), bem como a vacina Hybrid1/CAF01, a qual utiliza como antígeno uma proteína híbrida contendo a proteína ESAT6, secretada pelo *Mtb* e fusionada ao antígeno 85B em conjunto com o adjuvante o CAF01, um lipídeo catiônico empregado na forma de lipossomo (10). Há ainda a vacina M72/AS01, que se encontra em fase II de testes clínicos e emprega o antígeno 39 A de *Mtb* e o adjuvante sintético AS01(25, 29, 32). Essa vacina também está sendo testada como um reforço para indivíduos vacinados com a BCG.

Por último, destacamos o uso de um vetor bacteriano utilizado como sistema de entrega vacinal (VPM1002) na qual uma linhagem recombinante de BCG foi manipulada geneticamente para não expressar o gene da urease C e produzir uma citolisina produzida originalmente por *Listeria monocytogenes*, a listeriolisina. Essa estratégia se encontra em testes de fase II e tem se mostrado eficiente em induzir respostas imunológicas mediadas por linfócitos T CD8<sup>+</sup>. A ausência da uréase mantém o ambiente fagossomal ácido após a fagocitose permitindo a ação da listeriolisina, que rompe a membrana do fagossomo e expõe a bactéria no citoplasma da célula apresentadora de antígenos. Essa exposição permite que os antígenos sejam processados e apresentados por moléculas de MHC de classe I, com consequente ativação de linfócitos T CD8<sup>+</sup> (22).

Além das abordagens profiláticas, também estão em fase de testes em humanos as vacinas com ação terapêutica, isto é, vacinas voltadas para o tratamento de pessoas infectadas pelo *Mtb* (31). Algumas delas se encontram listadas na tabela 2 e são administradas em conjunto com o tratamento feito com drogas. A formulação vacinal RUTI é uma abordagem baseada em fragmentos bacterianos lipossomais detoxificados do *Mtb* e tem demonstrado boa tolerância em testes clínicos de fase I (31). Destacam-se também duas estratégias baseadas em micobactérias inativadas pelo calor, uma

**TABELA 1 - ESTRATÉGIAS VACINAIS PROFILÁTICAS ATUALMENTE EM TESTES CLÍNICOS PARA O CONTROLE DA TUBERCULOSE. ADAPTADO DE CAYABYAB ET AL., 2012.**

TIPO	CANDIDATO VACINAL	ANTÍGENO	FASE	REFERÊNCIA
Vetor viral (Virus Vaccinia Ankara modificado)	MVA85A	Subunidade 85 <sup>a</sup>	II	Mc Shane <i>et al.</i> , 2004
Vetor viral (adenovírus 5)	Ad5Ag85A	Subunidade 85 <sup>a</sup>	I	Eang <i>et al.</i> , 2004
Vetor viral (adenovírus sorotipo 35)*	AERAS-402/CRUCCELLAd35	Subunidades 85 <sup>a</sup> e B	II	Abel <i>et al.</i> , 2010
Proteína/subunidade + Adjuvante*	ID93 + GLA-SE	Fusão de 4 proteínas do Mtb	I	Bertholet <i>et al.</i> , 2008 e 2010
Proteína/subunidade + Adjuvante*	M72 + AS01	Mtb 39 <sup>a</sup>	II	Von Eschen <i>et al.</i> , 2009; Skeiky <i>et al.</i> , 1999; Nair <i>et al.</i> , 2011
Proteína/subunidade + Adjuvante	Hybrid1 + CAF01	ESAT6 fusionada ao Ag85b	I	Dietrich <i>et al.</i> , 2005
Vetor bacteriano	VPM1002 (rBCG ΔureC:hLY)	Antígenos nativos da BCG	II	Kaufmann <i>et al.</i> , 2012

\* Candidatos vacinais utilizados como reforço para a BCG.

**TABELA 2. ESTRATÉGIAS VACINAIS TERAPÊUTICAS PARA O CONTROLE DA TUBERCULOSE. ADAPTADO DE CAYABYAB ET AL., 2012.**

TIPO	CANDIDATO VACINAL	ANTÍGENO	FASE	REFERÊNCIA
Fragmento bacteriano	RUTI	poliantigênica	II	Cardona <i>et al.</i> , 2006; Vilaplana <i>et al.</i> , 2010
<i>Mycobacterium</i> inativada	MP	poliantigênica	III	Singh <i>et al.</i> , 1991; Patel <i>et al.</i> , 2002
<i>Mycobacterium</i> inativada	MOD901	poliantigênica	III	Reyn <i>et al.</i> , 2012

utilizando *M. indicuspranii* (MIP) (26) e a MOD901, baseada em *M. vaccae* (37, 38), que se encontram em teste clínico de fase III. A principal vantagem conferida por tais estratégias é a diminuição da duração do tratamento. Porém, vale destacar que imunizações com componentes de micobactérias (tanto do próprio *Mtb* quanto de micobactérias relacionadas) em pacientes que já apresentam a TB ou HIV representam um risco (16). Portanto, a seleção de uma estratégia vacinal a ser utilizada em protocolos de imunoterapia devem obedecer critérios rigorosos de inclusão e exclusão.

## CONCLUSÕES

Com cerca de 10 milhões de novos casos e aproximadamente 1,5 milhões de mortes por ano, a tuberculose permanece entre as doenças infecciosas mais ameaçadoras. O surgimento e a disseminação de cepas multirresistentes e a interação sinérgica com a epidemia de HIV aumentam os desafios e ameaçam os esforços globais para o controle da TB. Neste cenário, a pesquisa básica

e clínica devem trabalhar juntas para garantir a escolha de novas estratégias vacinais que sejam mais racionais aliadas ao acesso universal a programas de diagnóstico e tratamento eficientes. Só então poderemos atingir a meta de eliminar ou diminuir drasticamente os casos de TB até 2050, como proposto pela OMS (36).

Apesar de bons resultados alcançados por algumas estratégias vacinais atualmente em teste clínico, não há garantias de que essas novas abordagens sejam capazes de conferir melhor resposta do que a BCG. O sucesso na busca de uma vacina eficaz contra a TB depende ainda de um melhor conhecimento sobre os correlatos de proteção em humanos, compreensão das relações patógeno-hospedeiro e especialmente das estratégias de evasão das defesas imunológicas empregadas pelo patógeno (7). Diante de tal fato, podemos considerar que uma vacina que consiga substituir a BCG não estará disponível a curto ou médio prazo. Logo, abordagens que consigam aumentar as respostas imunológicas induzidas pela

BCG e, consequentemente, a proteção nos indivíduos já vacinados mostra-se como o caminho mais promissor para o controle vacinal da TB.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abbas KA, Lichtman, AH (2006). Cellular and Molecular Immunology. 6<sup>a</sup> ed.-updated edition.
2. Abel B, Tameris M, Mansoor N, Gelderbloem S, Hughes J, Abrahams D, Makhethhe L, Erasmus M, De Kock M, Van der Merwe L, *et al.* (2010) The novel tuberculosis vaccine, AERAS-402, induces robust and polyfunctional CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 181 (12): 1407–1417.
3. Bagnoli F, Baudner B, Mishra RP, Bartolini E, Fiaschi L, Mariotti P, Nardi-Dei V, Boucher P, Rappuoli R (2011) Designing the next generation of vaccines for global public health. *OMICS* 15 (9): 545–566.
4. Bertholet S, Ireton GC, Kahn M, Guderian J, Mohamath R, Stride N, Laughlin EM, Baldwin SL, Vedvick TS, Coler RN, Reed, SG (2008) Identification of human T cell antigens for the development of vaccines against *My-*

- cobacterium tuberculosis*. J Immunol 181 (11): 7948–7957.
5. Bertholet S, Ireton GC, Ordway DJ, Windish HP, Pine SO, Kahn M, Phan T, Orme IM, Vedvick TS, Baldwin SL, Coler RN, Reed SG (2010) A defined tuberculosis vaccine candidate boosts BCG and protects against multi-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. SciTransl Med 2(53): 53-74.
  6. Cardona PJ (2006) RUTI: a new chance to shorten the treatment of latent tuberculosis infection. Tuberculosis (Edinb.) 86 (3-4): 273–289.
  7. Cayabyab MJ, Macovei L, Campos-Neto A (2012) Current and novel approaches to vaccine development against tuberculosis. Front Cell Infect Microbiol 2:154; doi: 10.3389/fcimb.2012.00154.
  8. Checkley AM, McShane H (2012) Tuberculosis vaccines: progress and challenges. Trends in Pharmacological Sciences 32 (10):601-606.
  9. Cruz AT, Starke JR (2010) Childhood tuberculosis. Pediatr Rev31 (1):13-25.
  10. Dietrich J, Aagaard C, Leah R, Olsen AW, Stryhn A, Doherty TM, Andersen P (2005) Exchanging ESAT6 with TB10.4 in an Ag85B fusion molecule-based tuberculosis subunit vaccine: efficient protection and ESAT6-based sensitive monitoring of vaccine efficacy. J Immunol 174 (10): 6332–6339.
  11. Ducati RG, Basso LA, Santos DS (2005) Microbiologia. Ed. Luiz Rachid Trabulsi e Flavio Alterthum. Cap. 56, 409-421. 4º edição. EditoraAtheneu.
  12. Dye C, Watt CJ, Bleed DM, Hosseini SM, Raviglione MC (2005) Evolution of tuberculosis control and prospects for reducing tuberculosis incidence, prevalence and deaths globally. JAMA 293 (22): 2767–2775.
  13. Ernst JD (2011) The immunological life cycle of tuberculosis. Nature Rev Immunol 12 (8): 581-591.
  14. Falzon D, Jaramillo E, Schünemann HJ, Arentz M, Bauer M, Bayona J, Blanc, L, Caminero JA, Daley CL, Duncombe C, Fitzpatrick C, Gebhard A, Getahun, H, Henkens M, Holtz TH, Keravec J, et al. (2011) WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: 2011 update. EurRespir J 38 (9):516-528.
  15. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, Pawinski R, Govender T, Lalloo U, Zeller K, Andrews J, Friedland G (2006) Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. Lancet 368 (9547): 1575–1580.
  16. Hesseling AC, Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Fine PE (2007) The risk of disseminated Bacille Calmette-Guérin (BCG) disease in HIV-infected children. Vaccine 25 (1): 14–18.
  17. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ (2005) Immunobiology – the immune system in health and disease. Cap. 8; 319-365. 6ª edição.
  18. Kaufmann SH (2010) Future vaccination strategies against tuberculosis: thinking outside the box. Immunity 33: 567–577.
  19. Kaufmann SH (2001) How can immunology contribute to the control of tuberculosis? NatRev Immunol 1 (1): 20-30.
  20. Kaufmann SH (2006) Envisioning future strategies for vaccination against tuberculosis. Nat Rev Immunol 6 (9): 699-704.
  21. Kaufmann SH (2013) Tuberculosis vaccines: Time to think about the next generation. Seminars in Immunol dx.doi.org/10.1016/j.smim.2013.04.006.
  22. Kaufmann SH, Gengenbacher M (2012) Recombinant live vaccine candidates against tuberculosis. Curr Opin Biotechnol 23 (6): 900-907.
  23. McShane H, Pathan AA, Sander CR, Keating SM, Gilbert SC, Huygen K, Fletcher HA, Hill AV (2004) Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing antigen 85A boosts BCG-primed and naturally acquired antimycobacterial immunity in humans. Nat Med 10 (11): 1240–1244.
  24. Ministério da Saúde (2012) Boletim 1/2012. Tuberculose no Brasil. Disponível em: [http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/index.cfm?portal=pagina.visualizarTexto&codConteudo=6406&codModuloArea=783&chamada=boletim-1/2012\\_-\\_tuberculose-no-brasil](http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/index.cfm?portal=pagina.visualizarTexto&codConteudo=6406&codModuloArea=783&chamada=boletim-1/2012_-_tuberculose-no-brasil).
  25. Nair S, Pandey AD, Mukhopadhyay S (2011) The PPE18 protein of *Mycobacterium tuberculosis* inhibits NF-kappaB/rel-mediated proinflammatory cytokine production by up-regulating and phosphorylating suppressor of cytokine signaling 3 protein. J Immunol 186 (9):5413–5424.
  26. Patel N, Deshpande MM, Shah M (2002) Effect of an immunomodulator containing *Mycobacterium* won sputum conversion in pulmonary tuberculosis. J Indian Med Assoc 100 (3): 191–193.
  27. Rappuoli R, Aderem A (2011) A 2020 vision for vaccines against HIV, tuberculosis and malaria. Nature 473 (7348): 463-469.
  28. Sette A, Rappuoli R (2010) Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. Immunity 33 (4): 530–541.
  29. Skeiky YA, Lodes MJ, Guderian JA, Mohamath R, Bement T, Alderson MR, Reed SG (1999) Cloning, expression, and immunological evaluation of two putative secreted serine protease antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 67 (8): 3998–4007.
  30. Thom ML, McAulay M, Vordermeier HM, Clifford D, Hewinson RG, Villarreal-Ramos B, Hope JC (2012) Duration of Immunity against *Mycobacterium bovis* following Neonatal Vaccination with Bacillus Calmette-Guérin Danish: Significant Protection against Infection at 12, but Not 24 Months. Clin and Vaccine Immunol 19 (8): 1254-1260.
  31. Vilaplana C, Montané E, Pinto S, Barriocanal AM, Domenech G, Torres F, Cardona PJ, Costa J (2010) Double-blind, randomized, placebo-controlled Phase I clinical trial of the therapeutic antituberculous vaccine RUTI. Vaccine. 28 (4): 1106–1116. • Phase I clinical trial demonstrating safety of RUTI® in healthy adult subjects.
  32. Von Eschen K, Morrison R, Braun M, Ofori-Anyinam O, De Kock E, Pavithran P, Koutsoukos M, Moris P, Cain D, Dubois MC, Cohen J, Ballou WR (2009) The candidate tuberculosis vaccine Mtb72F/AS02A: tolerability and immunogenicity in humans. Hum Vaccine 5 (7): 475–482.
  33. Wang J, Santosuosso M, Ngai P, Zganiacz A, Xing Z (2004) Activation of CD8 T cells by mycobacterial vaccination protects against pulmonary tuberculosis in the absence of CD4 T cells. J Immunol 173 (7): 4590-4597.
  34. World Health Organization (WHO) (2003) Treatments of tuberculosis: guidelines for national programmes. Terceira edição.
  35. WHO (2010) Stop TB partnership: The Global Plan to Stop TB 2011 – 2015. Disponível: [http://www.stoptb.org/assets/documents/global/plan/TB\\_GlobalPlanTo-StopTB2011-2015.pdf](http://www.stoptb.org/assets/documents/global/plan/TB_GlobalPlanTo-StopTB2011-2015.pdf)

36. WHO (2012) Global Tuberculosis Report 2012. Geneva, Switzerland. Disponivel online em: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/).
37. Xu LJ, Wang YY, Zheng XD, Gui XD, Tao LF, Wei HM (2009) Immunotherapeutic potential of *Mycobacterium vaccae* on *M. tuberculosis* infection in mice. *Cell Mol Immunol* 6 (1): 67-72.
38. Yang XY, Chen QF, Li YP, Wu SM (2011) *Mycobacterium vaccae* as adjuvant therapy to anti-tuberculosis chemotherapy in never-treated tuberculosis patients: a meta-analysis. *PLoS ONE* 6 (9): e23826.
39. Zumla A, Raviglione M, Hafner R, Von Reyn CF (2013) Tuberculosis. *N Engl J Med* 368 (8): 745-755.

# Uma nova arma no combate à epidemia global da tuberculose

por Vanessa Vieira

*Vacina que usa o adenovírus humano 5 como vetor consegue intensificar com segurança a ação da BCG e fortalecer a resposta imune à doença*

Em 2012, 8,6 milhões de pessoas foram diagnosticadas com tuberculose e 1,3 milhão morreram por causa da doença, informa o anuário Global Tuberculosis Report 2013, divulgado em outubro pela Organização Mundial de Saúde. O problema pode ser ainda mais grave, já que se estima que um terço da população mundial esteja infectada de forma latente pelo *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico da doença. O microrganismo é especialmente letal para portadores do HIV, população em que pelo menos um terço das pessoas desenvolve a doença. Por tudo isso, a tuberculose é classificada pela OMS desde a década de 90 como uma emergência global de saúde pública e o seu combate aparece entre as metas de desenvolvimento do milênio fixadas para 2015.

Até hoje, a única vacina disponível contra a tuberculose é a BCG (Bacilo Calmette-Guérin), usada por alguns países, inclusive o Brasil, há quase 90 anos. Embora ela seja eficaz em alguns casos de tuberculose da infância, sobretudo a tuberculose de meninges, não previne a tuberculose pulmonar – que representa cerca de 90% dos casos de tuberculose globalmente. Considerando-se que a doença é também causada por amostras multirresistentes do bacilo (MDR) ou extensivamente resistentes (XDR) em várias regiões do planeta, a busca por uma alternativa vacinal mais eficiente é um desafio para a comunidade científica internacional. “Uma das maiores dificuldades para se produzir uma vacina contra a tuberculose é que o combate ao bacilo causador da doença não é mediado por anticorpos – como ocorre com outras va-

cinas – mas pelo sistema imune celular, sobretudo por macrófagos ativados por linfócitos T”, afirma o professor Diógenes Santiago Santos, Coordenador do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose do CNPq/MCTI/MS/DECIT. Como a ação dos macrófagos precisa ser ativada por células T, só foi possível avançar nas pesquisas para a criação de uma nova vacina com a ampliação recente dos conhecimentos em biologia molecular.

Atualmente, 12 possíveis vacinas contra a tuberculose estão sob avaliação clínica, mas uma das alternativas mais promissoras pode vir da Universidade de McMaster, no Canadá, mostra o artigo *A Human Type 5 Adenovirus-Based Tuberculosis Vaccine Induces Robust T Cell Responses in Humans Despite Preexisting Anti-Adenovirus Immunity*, publicado na revista *Science Translational Medicine*. A vacina, que usa como vetor o adenovírus humano 5, carregado do antígeno Ag85A, já havia sido testada em animais com resultados positivos. Mas os pesquisadores da McMaster deram um passo adiante para comprovar a capacidade da vacina de desencadear uma resposta imune efetiva em humanos.

Um total de 24 pessoas – 12 homens e 12 mulheres com idades entre 21 e 49 anos – receberam uma dose administrada por via intramuscular. Entre os voluntários, havia pessoas imunizadas e não-imunizadas com a BCG. “Nós mostramos que a AdHu5Ag85A é segura e altamente imunogênica, particularmente entre pessoas vacinadas com a BCG”, afirmam os autores. De fato, embora tenha ativado o sistema imune nos dois grupos de voluntários, a vacina desencadeou uma reação mais robusta entre os adul-

tos previamente vacinados com a BCG, estimulando células T dos tipos CD4+ e CD8+. “Isso acontece porque a nova vacina reativa elementos imunogênicos da BCG que diminuem com o tempo, intensificando novamente sua ação”, afirma o professor Diógenes.

Apesar dos bons resultados, os autores admitem que é preciso fazer testes mais amplos para investigar se a vacina seria segura para pacientes com infecções latentes pela tuberculose e co-infectados pelo HIV, já que o estudo somente avaliou indivíduos saudáveis. Segundo os autores do estudo, também é necessário promover testes complementares para confirmar se a vacina teria seu efeito reduzido em pessoas com imunidade pré-existente ao adenovírus 5. “Esse foi um estudo clínico Fase 1. Somente quando tivermos a Fase 3, na qual se testam milhares de pacientes, poderemos falar numa eficácia comprovada da vacina”, opina Diógenes Santos.

## FONTES

- Global Tuberculosis Report 2013, OMS [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/gtbr13\\_executive\\_summary.pdf](http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr13_executive_summary.pdf)

- *A Human Type 5 Adenovirus- Based Tuberculosis Vaccine Induces Robust T Cell Responses in Humans Despite Preexisting Anti-Adenovirus Immunity*. Fiona Smaitt et al. *Sci Transl Med* 5, 205ra134 (2013); DOI: 10.1126/scitranslmed.3006843

- Boletim de Pneumologia Sanitária. vol.9 no.1 Rio de Janeiro, junho de 2001. [http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?pid=S0103-460X2001000100005&script=sci\\_arttext](http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?pid=S0103-460X2001000100005&script=sci_arttext)

## Esforço conjunto

por Vanessa Vieira

*Novo núcleo de pesquisas em vacinas reúne acadêmicos de 20 laboratórios da USP. O objetivo é estimular a colaboração e promover o aumento da qualidade das pesquisas em vacinas no país*

Em 2012, foram divulgados os resultados do Projeto do Microbioma Humano (HMP), que promoveu o sequenciamento genético dos microorganismos colhidos em 250 voluntários. Uma das mais ambiciosas iniciativas na área de pesquisa genética desde o Projeto do Genoma Humano, o projeto reuniu os esforços de 200 cientistas de 80 instituições norte-americanas. O trabalho do consórcio, que permitiu identificar 10 000 tipos de microorganismos e estimar em 100 trilhões o número de bactérias que habitam o corpo humano, recebeu financiamento total de 115 milhões de dólares.

A mentalidade de reunir esforços e estimular a colaboração para promover conquistas significativas na área de imunização também é o espírito por trás do Núcleo de Pesquisas em Vacinas (NPV), uma iniciativa da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade de São Paulo, criado no fim de 2012. Só na USP, 20 laboratórios de quatro faculdades e institutos – Ciências Biomédicas, Física, Ciências Farmacêuticas e Medicina – desenvolvem trabalhos relacionados a novas tecnologias vacinais, mecanismos da patogenicidade microbiana e o funcionamento do sistema imunológico. Somados, esses conhecimentos podem permitir que novas vacinas sejam descobertas ou aprimoradas, de maneira

a aumentar sua eficácia e a segurança para uso em seres humanos ou animais. “A contribuição da USP na pesquisa em vacinas no país é expressiva, mas esse fato é pouco conhecido pela sociedade e mesmo pela comunidade acadêmica”, diz Luís Carlos de Sousa Ferreira, professor do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e coordenador do NPV. “Uma maior integração entre os grupos e o estímulo à colaboração pode promover mudanças importantes nesse quadro”, acrescenta.

Entre as pesquisas realizadas pelo grupo, destacam-se aquelas voltadas para a busca de vacinas eficazes contra a dengue, a AIDS, a malária, infecções fúngicas, alguns tipos de câncer, diarreias infecciosas e cárie dental. Para aumentar a interação entre os pesquisadores da área dentro e fora da USP, o NPV deve promover ao longo de 2014 uma série de eventos com temas de interesse para esse público, como vacinas para o controle da dengue e da AIDS. Também devem ser apresentadas novas pesquisas relacionadas a tecnologias vacinais, como a busca de substâncias (chamadas de adjuvantes), que melhoraram a eficácia de vacinas pela ativação do sistema imunológico.

A criação do NPV ainda deve facilitar a interação entre a USP e outras insti-

tuições que produzem vacinas – como a Fiocruz e o Instituto Butantan – e laboratórios que as comercializem. “Embora a USP não se proponha a produzir vacinas, sua competência acadêmica e o parque tecnológico aqui instalado não têm paralelo no país e podem conferir uma vantagem estratégica para o Brasil num setor muito competitivo”, diz o coordenador do NPV. O Brasil é um tradicional produtor de vacinas, fabricadas prioritariamente para o consumo interno. Contudo, as tecnologias empregadas para a fabricação delas foram desenvolvidas no exterior e posteriormente transferidas para o governo brasileiro por meio de licenciamento, a custos elevados. “Falta ao país mais autonomia científica e tecnológica para desenvolver e testar novas vacinas”, detalha Luís Ferreira.

Para o coordenador do NPV, a expectativa é que iniciativas como a do núcleo tenham um impacto positivo não apenas nas áreas acadêmica e científica, mas que também contribuam para que o país se torne um polo de desenvolvimento tecnológico na área de vacinas. Atualmente, os pesquisadores do NPV trabalham em 21 linhas de pesquisa relacionadas a vacinas ou temas afins, que podem ser consultadas na página do grupo ([www.npvusp.com.br](http://www.npvusp.com.br)).



# Selo de Qualidade SBM

## Confiança na qualidade do produto

Em 2009 a Sociedade Brasileira de Microbiologia implantou o Selo de Qualidade SBM, com o objetivo de promover a certificação de produtos sanitariamente adequados quanto à presença de microrganismos. Em paralelo ao Selo, foi criado o Departamento de Avaliação de Produtos pela SBM, responsável pelas análises e pesquisas dos produtos, incluindo as embalagens e informações ao consumidor.

A certificação do produto começou a ser uma exigência do mercado e os fabricantes passaram a se preocupar mais em adequar sua produção e seus produtos dentro de parâmetros qualitativos e com preços competitivos. O programa de certificação da SBM visa certificar produtos quanto a sua qualidade microbiológica e/ou sua capacidade germicida.

O processo de certificação pela SBM segue um programa internacional, cujas diretrizes emanam da Organização Mundial de Saúde.

O primeiro produto a receber o Selo de Qualidade da SBM foi o Dettol® produzido pela empresa Reckitt-Benckiser nas formas de sabonete em barra, sabonete líquido e gel anti-séptico. Este selo foi concedido após avaliação de parecer técnico-específico emitido por especialistas indicados pela SBM.



### Como solicitar o Selo SBM

As empresas interessadas em encaminhar seus produtos para avaliação do programa de certificação da SBM devem:

- Enviar carta à Sociedade Brasileira de Microbiologia e solicitar que o produto, fabricado ou comercializado no Brasil seja analisado para receber o Selo de Qualidade SBM;
- Também é preciso enviar estudos já realizados sobre o produto, como análises, pesquisas e formulação, além de informações adicionais que houver;
- Caso a comissão de avaliação achar necessário, novos testes em laboratórios credenciados poderão ser solicitados.

### Vigência é de 24 meses

Depois do envio deste material, o SBM firma com a empresa solicitante um protocolo de pesquisa, informando os objetivos, procedimentos e tempo de estudo. A realização dos ensaios dura entre 30 a 90 dias e todas as análises realizadas, materiais e equipamentos utilizados obedecem a normas específicas para cada produto. Sendo o produto aprovado, deverá a Empresa assinar um Contrato que rege todos os pontos do relacionamento com a SBM, passando a efetuar um pagamento mensal pela utilização da marca. Este valor mensal também é definido conforme o resultado da análise do Questionário de Perfil da Empresa.

Para tornar possível mais essa atividade da SBM, foi realizado um convênio de parceria com empresa tradicional em proficiência, a Controllab.

Para obtenção de maiores esclarecimentos entre em contato com:  
[sbm@sbmicrobiologia.org.br](mailto:sbm@sbmicrobiologia.org.br)

# MICROBIOLOGIA *in foco*

## SBM IN FOCO - A forma direta de falar com os microbiologistas.



Apresentamos o plano de comercialização para 1 ou 4 edição (ões) da Revista Microbiologia in Foco.

Periódico da Sociedade Brasileira de Microbiologia, com tiragem de 2000 exemplares e distribuição gratuita. Revista de informação e divulgação sobre temas em bacteriologia, micologia e virologia nas várias áreas de abrangência da Microbiologia: ambiental, agrícola, básica, de alimentos, industrial, médica humana e veterinária e oral.

A revista ainda conta com espaços para divulgação de consensos, agenda científica, atualidades e oportunidades de trabalho.

Venha fazer parte deste veículo de informação atualizada!

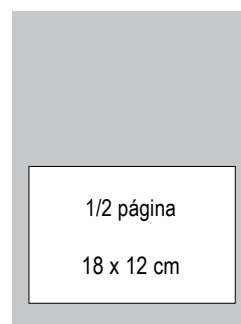
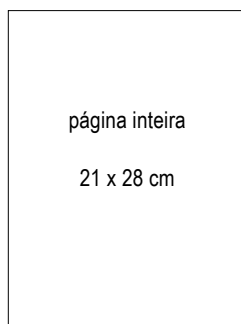
Atenciosamente,

Marina Baquerizo Martinez e Carlos P. Taborda - Editores  
Sociedade Brasileira de Microbiologia

### VALORES:

Capa Final Interna	1 edição R\$ 2.000,00	4 edições – R\$ 4.000,00 cada
Capa Final Externa	1 edição R\$ 2.500,00	4 edições – R\$ 5.200,00 cada
½ página (par)	1 edição R\$ 1.000,00	4 edições – R\$ 1.600,00 cada
Página Inteira (par)	1 edição R\$ 1.850,00	4 edições – R\$ 3.600,00 cada
½ página (impar)	1 edição R\$ 1.350,00	4 edições – R\$ 2.400,00 cada
Página Inteira (impar)	1 edição R\$ 2.150,00	4 edições – R\$ 4.400,00 cada

FORMA DE PAGAMENTO: 15 dias após a edição da Revista, através de boleto bancário com recibo oficial.



Para anunciar entre em contato com Jair Cagnotto:

E-mail: [financeiro@sbmicrobiologia.org.br](mailto:financeiro@sbmicrobiologia.org.br)

Telefone: (11) 3813-9647 ou 3037-7095

## AGENDA 2014

### Data: 1 a 6 de junho de 2014

Congresso Internacional de Micoplasmologia (IOM2014)  
Blumenau - SC



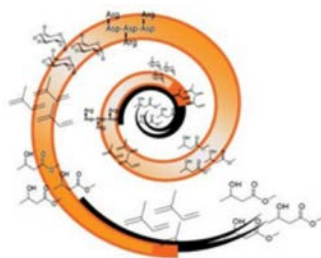
### Data: 5 a 8 de novembro de 2014

XXII Congresso Latinoamericano de Microbiologia (2014 ALAM)  
IV Congreso Colombiano de Microbiologia (4CCM 2014)  
Catagena de Indias, Colombia.



### Data: 28 de setembro a 1 de outubro de 2014

14th International Symposium on Biopolymers  
Santos - São Paulo - Brazil



### Data: 12 a 15 de outubro de 2014

12º Congresso Latinoamericano de Microbiologia e Higiene de Alimentos (COLMIC )  
IV IAFP Latin America  
13º Simpósio Internacional ABRAPA de Segurança de Alimentos  
Symposium of the International Commission on Food Mycology  
Foz do Iguaçu - Hotel Rafain



**SBM** SOCIEDADE  
BRASILEIRA DE  
MICROBIOLOGIA

**CURSOS**

## ESPECIALIZAÇÃO

**Carga horária**

904h compostas por 504 h presenciais, 200h de monografia e 200h de estudo dirigido.

### Especialização em Microbiologia Clínica

**Propósito principal**

diagnóstico laboratorial das doenças infecciosas.

**Público alvo**

graduados da área de saúde, biologia e profissionais atuantes em microbiologia médica.

### Especialização em Microbiologia Ambiental / Industrial

**Propósito principal**

utilização de microrganismos para geração de produtos de interesse comercial.

**Público alvo**

microbiologistas atuantes na área ambiental/industrial

### Especialização em Microbiologia de Alimentos

**Propósito principal**

origem e estabelecimento da microbiota de alimentos cárneos, lácteos e vegetais.

**Público alvo**

graduados da área da saúde, em biologia, veterinária, engenheiros de alimentos e microbiologistas atuantes na área de alimentos.

**Local e Data**

Quinzenalmente às sextas-feiras (19-23h) e aos sábados (9-18h)  
Universidade São Paulo – Campus Butantã

**Informações**

Coordenação Pedagógica da SBM  
curso @sbmicrobiologia.org.br  
+55 11 3037-7095  
www.sbmicrobiologia.org.br – link “cursos”

**SBM** SOCIEDADE  
BRASILEIRA DE  
MICROBIOLOGIA

**CURSOS**

## APERFEIÇOAMENTO

**Carga horária**

252h presenciais + 200h de estudo dirigido

### Aperfeiçoamento em Microbiologia Clínica

**Propósito principal**

diagnóstico laboratorial das doenças infecciosas.

**Público alvo**

graduados da área de saúde, biologia e profissionais atuantes em microbiologia médica.

### Aperfeiçoamento em Microbiologia Ambiental / Industrial

**Propósito principal**

utilização de microrganismos para geração de produtos de interesse comercial.

**Público alvo**

microbiologistas atuantes na área ambiental/industrial

### Aperfeiçoamento em Microbiologia de Alimentos

**Propósito principal**

origem e estabelecimento da microbiota de alimentos cárneos, lácteos e vegetais.

**Público alvo**

graduados da área da saúde, em biologia, veterinária, engenheiros de alimentos e microbiologistas atuantes na área de alimentos.

**Local e Data**

Quinzenalmente às sextas-feiras (19-23h) e aos sábados (9-18h)  
Universidade São Paulo – Campus Butantã

**Informações**

Coordenação Pedagógica da SBM  
curso @sbmicrobiologia.org.br  
+55 11 3037-7095  
www.sbmicrobiologia.org.br – link “cursos”

Os sócios da SBM têm direito a descontos especiais nos eventos promovidos ou patrocinados pela SBM. Para usufruir do desconto de associado em nossas atividades é imprescindível estar anuente a dois anos consecutivos com a sociedade. Além disso, têm acesso livre à revista científica *Brazilian Journal of Microbiology* (BJM) e que se destina à publicação de trabalhos de pesquisa originais, notas breves e revisões, envolvendo todos os aspectos da Microbiologia. É considerada uma das revistas científicas mais importantes do nosso país. O BJM tem uma política muito severa de avaliação dos trabalhos submetidos à publicação, sendo cada manuscrito avaliado por pelo menos dois revisores criteriosamente selecionados.

A revista *Microbiologia in Foco* tem o objetivo de promover o intercâmbio de informações científicas entre os associados, publicando os autores nacionais de expressão. Adota o mesmo critério de avaliação e excelência que a SBM sempre adotou. Enviaremos o último número da *Microbiologia in Foco* a todos os novos associados, após sua efetiva associação.

## Fique sócio da SBM.

Veja informações no site: [www.sbmicrobiologia.org.br](http://www.sbmicrobiologia.org.br)

Lembre-se: um sócio da SBM integra a maior e mais representativa associação da comunidade científica que atua na microbiologia nacional.

## Valores para associação

Categoria de Sócio .....	Anuidade 2013
Aluno de Graduação .....	R\$ 85,00
Aluno de Pós-Graduação (Mestrado e Doutorado) .....	R\$ 135,00
Pós-Doutorando .....	R\$ 165,00
Profissional .....	R\$ 195,00
Assinatura Jurídica .....	R\$ 355,00

## Diretoria

Biênio 2014-2015

SBM 2014-2015

### Presidente

Marina Baquerizo Martinez (USP-SP)

### Vice Presidente

Carlos Pelleschi Taborda (USP-SP)

### 1º Secretário

Gustavo Henrique Goldmann (FCRP-SP)

### 2º Secretário

Elizabeth de Andrade Marquez (UERJ-RJ)

### 1º Tesoureiro

Carla Taddei de Castro Neves (USP-SP)

### 2º Tesoureiro

Ana Lucia Figueiredo Porto (UFRP-PE)

### Conselho Fiscal

Alexandre Soares Rosado (UFRJ-RJ)

Lauro Santos Filho (UFPB-PB)

Ana Lucia da Costa Darini (FCFRP-SP)

## Representantes de Área

SBM 2014-2015

### Coleções de Culturas

- Manuela da Silva, Fiocruz/RJ
- André Rodrigues - UNESP / Rio Claro

### Ensino

- Maria Magali Stelato - PUC/Campinas
- Marcela Pelegrine Peçanha - PUC-SP / UNISO

### Genética de Microrganismos e Bioinformática

- Gustavo Goldman – USP/SP
- Iran Malavazi - UFSCAR

### Infecção Hospitalar

- Afonso Luis Barth - UFRGS
- Lauro Santos Filho - UFPB

### Micologia

- Célia Maria de Almeida Soares, UFG, GO
- Rosely Maria Zancopé Oliveira - FIOCRUZ

### Micotoxinas

- Idjane Oliveira - UFPE/PE
- Beatriz Thie Iamanaka - ITAL - SP

### Microbiologia Ambiental

- Valéria Mia – UNICAMP
- Raquel Peixoto – UFRJ

### Microbiologia Clínica

- Ana Lucia da Costa Darini - USP/Ribeirão Preto
- Jorge Luiz Mello Sampaio - USP/SP

### Microbiologia de Alimentos

- Elaine de Martins - USP/Ribeirão Preto
- Mariza Landgraf - USP/São Paulo

### Microbiologia do Solo

- Fernanda Andrade - UFC
- Vânia Maria Maciel Melo – UFC

### Microbiologia Industrial e Biotecnologia

- Luiz Henrique Guimarães – USP/Ribeirão Preto
- Adalberto Pessoa Junior - USP/SP

### Microbiologia Veterinária

- Rinaldo Aparecido Mota – Universidade Federal Rural de Pernambuco
- Miliane Moreira Soares de Souza - UFRJ

### Patogenicidade Bacteriana

- Agnes Marie Sá Figueiredo - UFRJ
- Tânia Aparecida Tardelli Gomes do Amaral – Univ. Federal de São Paulo

### Patógeno-Hospedeiro

- André Báfica - UFSC
- Leticia Carneiro - UFRJ

### Virologia

- Flávio Guimarães da Fonseca – UFMG/MG
- Luciana Barros de Arruda, UFRJ-RJ





