

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CURSO DE FARMÁCIA**

**MICHELLE PEREIRA BEZERRA**

**NANOVACINAS: A NOVA ERA DA IMUNIZAÇÃO**

JOÃO PESSOA – PB

Novembro – 2021

**MICHELLE PEREIRA BEZERRA**

## **NANOVACINAS: A NOVA ERA DA IMUNIZAÇÃO**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.**

**Orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior**

**JOÃO PESSOA-PB**

**2021**

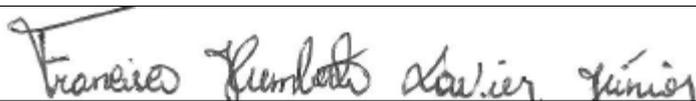
**MICHELLE PEREIRA BEZERRA**

## **NANOVACINAS: A NOVA ERA DA IMUNIZAÇÃO**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.**

Aprovado em 26 de Novembro de 2021.

---

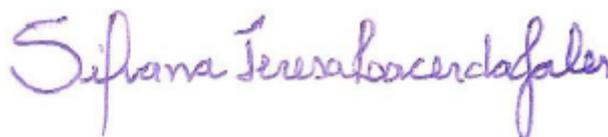


Prof. Dr. Orientador: Francisco Humberto Xavier Júnior  
Universidade Federal da Paraíba- UFPB



---

Profª. Drª. Fabíola Bernardo Carneiro  
Universidade Federal da Paraíba- UFPB



---

Profª. Drª. Silvana Teresa Lacerda Jales  
Universidade Federal da Paraíba- UFPB

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

B574n Bezerra, Michelle Pereira.

Nanovacinas : A nova era da imunização. / Michelle  
Pereira Bezerra. - João Pessoa, 2021.  
54 f. : il.

Orientação: Francisco Humberto Xavier Júnior.  
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Imunização. 2. Nanotecnologia. 3. Nanociência. 4.  
Vacinas. 5. Nanovacinas. I. Xavier Júnior, Francisco  
Humberto. II. Título.

UFPB/CC

CDU 614.47

## Dedicatória

À minha filha Júlia Amora, luz da minha vida,  
meu coração fora do peito.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, em primeiro lugar, por ter me conduzido até aqui durante esses cinco anos e meio de caminhada, que me levou e me trouxe para casa em segurança todos os dias. Que nos dias em que eu fraquejava, queria desistir e não conseguia enxerga-lo, sempre arranjava um jeito de me mostrar que estava comigo, seja no cantar dos bem te vis ou em um chão coberto de flores rosa.

Ao meu marido Joallyson, meu maior incentivador desde o início, que sempre esteve presente ao meu lado e me deu força nas horas de desânimo e cansaço, que nunca me deixou desistir, pois sabia que este era o meu sonho, mesmo que eu mesma, as vezes, duvidasse.

Aos meus pais, Manoel e Lúcia, também meus maiores incentivadores, que sempre lutaram para que eu chegasse onde cheguei, sem eles nada disso teria sido possível. Agradeço a ambos por seu amor incondicional, vocês são uma parte muito importante desta conquista.

Aos meus sogros Joãozinho e Lúcia, que sempre acreditaram em mim, e me deram forças e suporte para continuar nesta jornada.

Meu irmão, Márcio, e meus cunhados, Jacielly, Joyce e Jailson, pessoas maravilhosas que sempre encontraram uma maneira de estarem presentes em minha caminhada trazendo luz e felicidade para minha vida.

Aos meus parceiros de jornada, meus amigos que a UFPB me deu. Em especial a turma da sainha que sempre esteve ao meu lado deixando meus dias mais leves, dividindo tristezas e muitas alegrias, Maíra, Manuella, Raíssa e Thyfanne, minha fiel escudeira, companheira de cafés da manhã, de sala de aula e de vida.

Ao meu Professor orientador Humberto Xavier, que me acolheu de braços abertos com este desafio que lhe trouxe, sua autenticidade e carisma me inspiraram a ser melhor sempre. Obrigada por sua paciência durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a banca orientadora, minhas queridas professoras Fabíola e Silvana, mulheres que inspiram, mulheres fortes, mães, guerreiras, professoras, quando crescer quero ser igual a vocês.

Enfim, agradeço a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para o meu crescimento acadêmico e o desenvolvimento deste trabalho. Meu muito obrigada!

BEZERRA, M.P. **Nanovacinas: A nova era da imunização.** Curso de Farmácia. Trabalho de Conclusão de Curso. CCS/UFPB. João Pessoa/PB, 2021.

## RESUMO

As vacinas são imunizantes preparados através de patógenos ou fragmentos destes que perderam sua capacidade de gerar doença. Quando o indivíduo é vacinado, fica protegido de uma enfermidade potencialmente grave. No entanto, desenvolver vacinas não é tarefa simples e vários estudos são necessários para se obter um conhecimento detalhado sobre a resposta do sistema imunológico aos antígenos. Mesmo diante dos grandes avanços desde as primeiras vacinas, ainda existem lacunas a serem preenchidas. Os imunizantes convencionais oferecem algumas desvantagens principalmente relacionadas a imunogenicidade, estabilidade e armazenamento do produto final. A nanotecnologia aparece como uma poderosa ferramenta para tentar solucionar os problemas das vacinas tradicionais, e por isso as nanovacinas são uma nova geração de imunizantes que fazem uso das nanopartículas como transportadores ou adjuvantes, e que tem gerado perspectivas promissoras para o tratamento de doenças que até então não tinham tido bons resultados com as vacinas tradicionais. Diante deste contexto, o objetivo deste trabalho foi revisar aspectos relacionados a produção de nanovacinas. Portanto, alguns pontos relevantes sobre este tema como: O histórico das vacinas e sua importância; tipos de vacinas; plataformas existentes; vantagens e desvantagens desta tecnologia, entre outros são apresentados. Além disso, uma breve apresentação da área da nanotecnologia e suas infinitas possibilidades na fabricação de nanovacinas são também abordados à luz de seus respectivos estágios de estudos clínicos. Embora as vacinas existentes atualmente sejam muito importantes no contexto da imunização, os esforços para desenvolver vacinas de melhor qualidade, mais seguras e mais eficientes são muito válidos. Espera-se que um número cada vez maior de nanovacinas sejam aprovadas e cheguem ao mercado. Todavia, os estudos referentes a biossegurança, toxicidade, biodisponibilidade, devem ainda ser otimizados para obter respostas imunes para vacinas baseadas em nanopartículas.

**Palavras-chave:** Imunização, Nanotecnologia, Nanociência, Vacinas, Nanovacinas.

## ABSTRACT

Vaccines are immunizing agents produced with pathogens or fragments that lose their ability to generate disease. When a person is vaccinated, they are protected from potentially serious illness. However, developing vaccines is not a simple task and several studies are needed to obtain detailed knowledge about the immune system's response to antigens. Despite the great advances since the first vaccines, there are still gaps to be filled. Conventional immunizers offer some disadvantages mainly related to immunogenicity, stability, and storage of the final product. Nanotechnology appears as a powerful tool to try to solve the problems of traditional vaccines, and that is why nanovaccine is a new generation of immunizers using nanoparticles as carriers or adjuvants, and that has generated promising prospects for the treatment of diseases that even then they had not had good results with traditional vaccines. In this context, the objective of this work was to review aspects related to the production of nanovaccines. Therefore, some relevant points on this field, such as: The history of vaccines and their importance; types of vaccines; existing platforms; advantages and disadvantages of this technology, among others are presented. In addition, a brief presentation about nanotechnology and its infinite possibilities in the manufacture of nanovaccines is also addressed considering their respective stages in clinical studies. While currently, existing vaccines are very important in the context of immunization, efforts to develop better quality, safer, and more efficient vaccines are very worthwhile. It is expected that an increasing number of nanovaccines will be approved and reach the market. However, studies related to biosafety, toxicity, bioavailability, must still be optimized to obtain immune responses to vaccines based on nanoparticles.

**Keywords:** Immunization, Nanotechnology, Nanoscience, Vaccines, Nanovaccines.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

<b>Figura 1</b> – Exemplificação das dimensões nanométricas.....	27
<b>Figura 2</b> – Linha de tempo de descoberta dos nanossistemas .....	37
<b>Figura 3</b> – Vantagens e desvantagens dos principais nanossistemas.....	37

## **LISTA DE QUADROS E TABELAS**

<b>Tabela 1</b> – Tipos de vacinas .....	24
<b>Tabela 2</b> – Nanocarreadores de vacinas em estudos pré-clínicos .....	43
<b>Tabela 3</b> – Nanocarreadores de vacinas em estudos clínicos de fases 1, 2 ou 3.....	45
<b>Tabela 4</b> – Nanocarreadores de vacinas comercializadas.....	45
<b>Tabela 5</b> – Nanovacinas contra doenças infecciosas emergentes.....	46

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1 Objetivo Geral.....	11
2.2 Objetivos específicos.....	11
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	<b>12</b>
<b>4. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>13</b>
4.1. VACINAS.....	13
4.1.1. Breve histórico.....	17
4.1.2. Importância das vacinas no contexto da imunização.....	19
4.1.3. Plataformas de produção das vacinas.....	21
4.1.4. Tipos de vacina.....	21
4.2 NANOTECNOLOGIA.....	27
4.2.1. Conceitualização.....	27
4.3. PRINCIPAIS NANOSSISTEMAS USADOS COMO VACINAS.....	30
4.3.1. Vírus como Partículas 3227	
4.3.2. Nanopartículas poliméricas.....	33
4.3.3. Nanopartículas lipídicas.....	36
4.4. NANOVACINAS.....	39
4.5. MERCADO E TESTES CLÍNICOS.....	44
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>50</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o surgimento das primeiras vacinas, há cerca de dois séculos, os pesquisadores tentam encontrar através da imunoterapia, respostas para as doenças pandêmicas mais comuns. É fato que a descoberta das vacinas foi um dos avanços em saúde pública mais significativos dos últimos tempos, prevenindo a morbidade e mortalidade de milhares de pessoas anualmente. As campanhas de vacinação tradicionais conseguiram erradicar e diminuir a incidência de muitas doenças prevalentes, porém diversas limitações como eficácia comprometida e respostas imunogênicas, a falta de proteção prolongada contra cepas patogênicas variáveis, alergias e necessidade de adesão de múltiplas doses, fazem com que os horizontes para prevenção ou tratamento de outras doenças prevalentes no mundo todo como a AIDS, tuberculose, malária, câncer, entre outras, seja limitado (BHARDWAJ, et al, 2020; D'AMIACO, et al, 2021).

À medida que as vacinas são desenvolvidas baseando-se em conceitos modernos e designs racionais, o número de vacinas candidatas aumenta, fazendo com que a maioria das candidatas representem composições minimalistas, que geralmente podem exibir uma menor imunogenicidade. Para resolver este problema, adjuvantes e novos sistemas de entrega que aumentem a imunogenicidade são cada vez mais necessários à medida em que avançamos em direção a era das vacinas modernas. As ciências nanotecnológicas trazem a possibilidade de se projetar nanopartículas com diferentes composições, tamanho, formas e propriedades de superfície para aplicação no campo da medicina (ZHAO, et al, 2014).

O uso de nanopartículas na área de vacinologia vem ganhando força principalmente para ajudar nas abordagens profiláticas e muitas são aprovadas para uso terapêutico que podem ser utilizadas, por exemplo, em amplo espectro para o câncer, além do tratamento de outras doenças como Alzheimer, hipertensão, etc. As nanopartículas utilizadas nas vacinas são capazes de agir basicamente aumentando o processamento de antígenos ou ativando a imunidade para fornecer proteção contra doenças. Sua grande importância nesse campo é devida ao seu tamanho, pois dessa maneira podem passar através de componentes celulares por

endocitose celular e, portanto, são capazes de entregar os compostos biologicamente ativos (YADAV, et al, 2018).

A ideia de incorporação da nanotecnologia no campo da produção de vacinas surgiu por que acreditava-se que quando as nanoestruturas são projetadas e introduzidas no organismo, elas podem melhorar a saúde, incluindo reparos celulares a nível molecular. Desta maneira a aplicação da nanotecnologia foi de muita importância na resolução de problemas enfrentados com vacinas anteriores. As nanopartículas são caracterizadas de maneira que o tamanho e as propriedades de superfície permitam a absorção pelas células apresentadoras de antígeno. Outras vantagens que elas podem proporcionar, incluem a proteção do antígeno contra degradação, estabilidade nos fluidos corporais e fornecimento de uma liberação prolongada (ZHAO, et al, 2014).

Nesta revisão, será dada uma visão geral a respeito das vacinas, trazendo um pouco dos avanços recentes na área das vacinas baseadas em nanotecnologia, seus principais nanossistemas e as vantagens e desvantagens relacionados ao tema.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Realizar uma revisão bibliográfica acerca das vacinas e nanovacinas.

### **2.2 Objetivos específicos**

Reunir informações relativas às vacinas e nanovacinas;

Realizar uma revisão da literatura sobre aspectos relevantes na obtenção de nanovacinas;

Demonstrar o potencial que as nanovacinas têm de melhoramento das vacinas tradicionais.

### **3. METODOLOGIA**

Esta revisão bibliográfica foi conduzida utilizando recursos da literatura eletrônica que incluem livros e trabalhos de pesquisa originais, além de outras informações obtidas nos bancos de dados NCBI (Nacional center for Biotechnology Information), PubMed e SciELO, através das palavras chave que remeteram ao tema: Imunização, Nanotecnologia, Nanociência, Vacinas, Nanovacinas. Com a utilização das palavras-chave mencionadas anteriormente, a busca direcionou a diversos estudos, na forma de artigos, monografias, teses e dissertações, que foram utilizados como suporte para esta revisão bibliográfica.

## 4. REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 VACINAS

As vacinas são substâncias biológicas preparadas a partir de microrganismos causadores das doenças, modificados laboratorialmente de forma a perderem sua capacidade de gerar a doença, que ao serem introduzidas no organismo criam um estado de proteção artificial e sem riscos contra determinadas doenças infecto contagiosas graves. Elas ativam o sistema imunológico fazendo com que nosso organismo reconheça e combata vírus e bactérias em futuras infecções (FIOCRUZ, 2021). Para que isto ocorra é necessário que a vacina contenha antígenos derivados do patógeno ou produzidos sinteticamente para representar os componentes do patógeno. O componente que é essencial à maioria das vacinas é um ou mais antígenos proteicos que induzem respostas imunes que fornecem proteção. Antígenos polissacarídicos também podem induzir respostas imunes protetoras e são a base de vacinas que foram desenvolvidas para prevenir várias infecções bacterianas, como por exemplo pneumonia e meningite por *Streptococcus pneumoniae*, desde o final da década de 1980. (POLLARD e BJIKER, 2020)

Uma das grandes vitórias da medicina se deu na capacidade de aproveitar os mecanismos da imunidade humoral, celular e inata, através da vacinação com a finalidade de proteger os indivíduos de diversos tipos de doenças infecciosas (DELVES, 2018). De acordo com Ribeiro (2019), a profilaxia contra doenças infecciosas através das campanhas de vacinação é tão importante que conseguiu-se erradicar a varíola, que foi uma doença altamente contagiosa que afligiu a humanidade por séculos, além de diminuir significativamente a incidência de diversas outras doenças através da prevenção vacinal. Dessa maneira, nem mesmo os antibióticos tiveram tanto efeito na diminuição da mortalidade e no crescimento da população quanto às vacinas (PLOTIKIN, 2008; RIBEIRO, 2019).

Foi durante as epidemias de varíola que devastaram a Europa nos séculos XVII e XVIII que a prática da variolação foi introduzida na Inglaterra por Lady Mary Wortley Montagu em 1717. Esta prática consistia na utilização de materiais das crostas das lesões de varíola como tentativa de fornecer proteção

contra a doença. Em 1798 estudos desenvolvidos por Edward Jenner demonstraram que ao utilizar material das lesões de varíola bovina retiradas das mãos da leiteira Sarah Nelms, introduzir na pele de James Phipps, de 8 anos, e em seguida desafiar a doença, foram fornecidas evidências de que a vacinação poderia funcionar. Cerca de 100 anos depois, por volta de 1880, os trabalhos de Louis Pasteur com a vacina contra raiva, marcaram o início de um período de intenso desenvolvimento relacionado as vacinas, em meados do século XX já existiam muitas vacinas para diferentes tipos de doenças, como por exemplo: difteria, tosse convulsa e febre tifoide, que foram desenvolvidos a partir de produtos de patógenos inativados ou vacinas toxóides. A introdução de programas abrangentes de vacinação levou a um notável impacto na saúde infantil. Em 1974 a Organização Mundial de saúde lançou o programa expandido de imunização e em 1977 foi estabelecida a meta de alcançar todas as crianças do mundo com vacinas contra difteria, coqueluche, tétano, poliomielite, sarampo e tuberculose até 1990, apesar de esta meta não ter sido alcançada a Organização Mundial de Saúde estima que cerca de 2 a 3 milhões de vidas são salvas a cada ano através dos programas de imunizações atuais (DELVES, 2018; POLLARD e BJIKER, 2020; OMS, 2020).

Podemos classifica-las em três grandes grupos ou gerações, baseadas nos conceitos utilizados para preparação dos princípios ativos, os antígenos vacinais. As vacinas ditas de primeira geração, são aquelas que empregam o agente patogênico completo na sua composição, mas que são submetidos a tratamentos que levam a inativação ou a atenuação dos microrganismos. Nessa categoria também se enquadram os microrganismos não patogênicos derivados de outros hospedeiros e que são utilizados como antígenos para vacinas voltadas para controle de doenças causadas por patógenos assemelhados. Vacinas contra coqueluche, poliomielite, sarampo, varíola, são exemplos de vacinas que fazem parte desta geração. Já com relação a segunda geração de vacinas, são aquelas que surgiram a partir da noção de que em alguns patógenos a proteção vacinal pode ser obtida após a indução de anticorpos voltados para um único alvo, como uma toxina, responsável pelos sintomas da doença, ou açúcares de superfície que permitem ao sistema imune do hospedeiro neutralizar e eliminar bactérias que de outra forma se propagariam rapidamente antes de serem notadas por nossas principais linhas de defesa imunológicas. Como

exemplo deste grupo podemos citar as vacinas acelulares que empregam toxóides, proteínas e polissacarídeos purificados, como a antitetânica, antidiftérica e a hepatite B. As vacinas mais recentes são ditas de terceira geração, nelas emprega-se a informação genética do patógeno responsável pela codificação de proteínas que representam antígenos relevantes para sua proteção, são as chamadas vacinas de DNA ou gênicas (DINIZ e FERREIRA, 2010; HOMMA et al, 2011)

Uma das principais vantagens das vacinas é o fato de que elas estimulam uma resposta imune por anticorpos antes que o indivíduo seja exposto ao microrganismo causador da doença na comunidade. Isto acontece porque quando o indivíduo entra em contato com o microrganismo primeiramente através da vacinação, uma resposta imune será estimulada, porém não é capaz de gerar a doença em si, e sim irá promover a produção de células de memória e de anticorpos contra os antígenos. Sendo assim, o indivíduo na segunda exposição ao microrganismo, na comunidade, não mais adoece, visto que já apresenta uma memória imunológica para aquele patógeno. (RIBEIRO, 2019)

A imunização pode ser passiva ou ativa, na imunidade passiva é necessário que seja feita uma transferência de anticorpos ou linfócitos que tenha sido produzida em outro organismo que já tenha as informações imunológicas necessárias contra o antígeno (COICO e SUNSHINE, 2010). Neste tipo de imunidade o receptor dos anticorpos ainda não tinha sido exposto ao antígeno e por este motivo a duração da ação imune decorrente será por tempo reduzido. Ela pode ser natural como a imunidade que protege os fetos e os recém-nascidos através da transferência de anticorpos que são produzidos pela mãe, ou artificial onde os anticorpos serão reunidos em um líquido chamado soro e serão transferidos para um organismo que não é totalmente imune ao antígeno que desencadeou a resposta imunológica. Já com relação à imunização ativa ela é justamente aquela que vai reagir aos organismos invasores e irá recrutar as células do sistema imune adaptativo, especialmente linfócitos para que produzam anticorpos para combater os antígenos (SILVA, 2014). Esta também pode ser natural ou induzida, onde a natural será aquela em que o próprio organismo reage combatendo os antígenos ao qual foi exposto. E a induzida é justamente ocasionada pela administração de vacinas, que são um preparado de antígenos patogênicos que contém esses agentes mortos, modificados, atenuados, ou

contém suas toxinas ou outros componentes do antígeno que é capaz de fazer com que o sistema imunológico venha a produzir anticorpos (PLAYFAIR e CHAIN, 2013)

A imunização coletiva será alcançada quando um determinado número de indivíduos seja imunizado e a transmissão da doença entre as pessoas seja interrompida (DELVES, et al, 2018). É graças a esse tipo de imunidade comunitária que crianças muito pequenas, mesmo ainda não tendo sido vacinadas para certos tipos de doenças, geralmente não adoecem. (D'AMIACO, et al, 2021). Porém mesmo que a imunização sozinha seja capaz de reduzir a incidência de uma doença a números significativamente baixos, também é necessário que outros tipos de prática higiênica e sanitária sejam adotados para que contribuam com a melhoria geral da saúde pública (COICO e SUNSHINE; 2010). Ademais, quando a cobertura vacinal tende a diminuir, a imunidade de grupo pode ser quebrada e a doença pode reaparecer, como o que está ocorrendo no Brasil com as voltas das mortes por sarampo. (RIBEIRO, 2019)

Normalmente, as vacinas são produzidas com componentes dos próprios patógenos que causam a doença, que em geral são versões mortas ou enfraquecidas dos mesmos, que ao serem injetadas no organismo irão induzir uma resposta imunológica (D'AMIACO, et al, 2021). Um dos principais processos de produção das vacinas é a produção do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA). Para vacinas que utilizam como antígeno o vírus atenuado ou inativado, o processo acontece a partir da replicação celular de uma cepa de referência e posterior purificação e inativação, caso seja necessário. Já as vacinas bacterianas são produzidas através de um processo de fermentação. As vacinas mais recentes de RNAm, por exemplo, utilizam a tecnologia do DNA recombinante. Alguns tipos de vacina precisam ainda de adjuvantes que irão melhorar suas respostas imunes, de conservantes, que irão impedir a contaminação da vacina após aberta, e estabilizantes, que previnem reações químicas nas vacinas (DUARTE, 2021).

As etapas de desenvolvimento das vacinas são semelhantes às de desenvolvimento de medicamentos tradicionais, onde elas passam por 4 fases: pré-clínica e clínicas de fases 1, 2 e 3 (SCHATZMAYR, 2003). Na primeira fase, a pré-clínica, a vacina é testada em animais e quando obtêm resultados satisfatórios, é validada sua capacidade de induzir resposta imune protetora e segurança. Então ela pode passar para os estudos clínicos de fase 1, onde a dose correta, a

segurança, e a imunogenicidade serão avaliadas em um pequeno grupo de voluntários adultos e saudáveis. Passando-se para a fase 2, os estudos continuam avaliando os mesmos parâmetros da fase anterior, porém utilizando um número maior de voluntários, que geralmente conta com mais de 100 participantes. Chegando na fase 3, a vacina é administrada em milhares de pessoas e seus resultados são comparados com um grupo de pessoas que recebeu placebo no lugar da vacina, e com isso pode-se determinar se a vacina é eficaz para combater a doença designada (DUARTE, 2021).

#### **4.1.1 Breve histórico**

Segundo Delves e colaboradores (2018), há séculos já era incorporado no folclore a ideia de que os sobreviventes de doenças infecciosas graves dificilmente viriam a contrair novamente a mesma infecção. Em Atenas, Tussídes observou que os que cuidavam dos doentes eram pessoas que já tinham sido infectadas e se recuperaram da doença e dessa forma, não mais adoeciam. Na China, as pessoas inalavam um pó preparado a partir das crostas da varíola para se proteger de alguma infecção futura. Na Índia inoculava-se o material da crosta de varíola em pequenas feridas na pele. Essa prática, que ficou conhecida como variolação, foi levada a Europa ocidental e foi utilizada na Inglaterra e nos Estados Unidos até surgirem as primeiras investigações do médico inglês Edward Jenner (KARCH e BURKHARD, 2016).

Em 1798 foi que o termo vacina surgiu pela primeira vez, após ouvir relatos de que os trabalhadores da zona rural não pegavam varíola, pois já haviam contraído a varíola bovina (cowpox), o médico Edward Jenner começou a fazer experimentos nos quais demonstrava que após a inoculação prévia em humanos de uma “vacínia” que não era virulenta, o mesmo estaria protegido de uma infecção subsequente de varíola (DELVES, 2018). Mas foi só por volta de 1870 com Louis Pasteur e Robert Koch que a relação causa-efeito entre a presença de microrganismos patogênicos e doenças foi estabelecida (FEIJÓ E SÁFADI, 2008).

As pesquisas de Louis Pasteur sobre a teoria dos germes como causa das doenças, foi um marco no avanço dos estudos sobre as vacinas. Diversas aves

que foram inoculadas com uma cultura velha de bacilos de cólera aviária que havia sido esquecida sobre uma bancada e dessa forma perdeu grande parte de sua capacidade de gerar doenças, tornaram-se resistentes a culturas frescas do bacilo (DELVES, 2018). Embora na época os mecanismos de imunização não fossem bem conhecidos, Pasteur guiou-se por suas hipóteses e produziu vacinas contra a cólera aviária e o antraz em carneiros, atenuando a virulência dos agentes etiológicos. Utilizando-se da medula espinhal extraída de coelhos infectados, desenvolveu a vacina humana contra raiva, cuja eficácia e segurança foram gradativamente aprimoradas (BRUNIERI, 2016). E como uma homenagem a Edward Jenner, Pasteur deu o nome de Vacina a qualquer preparação de um agente que fosse utilizado para imunização de uma doença infecciosa (FEIJÓ E SÁFADI, 2008).

No Brasil, por volta do fim do século XIX e início do século XX, a população do Rio de Janeiro sofria com a falta de saneamento básico e com doenças como varíola, tuberculose, febre amarela, entre outras. O médico Oswaldo Cruz foi nomeado para o saneamento da cidade por Rodrigues Alves, então presidente da república. Ao criar ações sanitárias para combater doenças, como a obrigatoriedade das vacinas, Oswaldo Cruz aumentou o descontentamento da população, vindo a culminar na revolta da vacina em 1904, onde a cidade foi palco de diversos confrontos entre a população, polícia e o exército, resultando na morte de diversas pessoas (SILVA, 2014).

Em 1909, Calmette e Guérin desenvolvem a vacina BCG contra tuberculose, primeira vacina humana baseada em bactérias atenuadas, obtida pela primeira vez após 230 passagens seriadas do agente *M. bovis* em meio artificial durante um período de 14 anos. (FERNANDES et al, 2021).

A descrição das toxinas bacterianas promoveu uma série de estudos sobre a produção de antitoxinas que podiam neutralizar as toxinas ou replicação bacteriana. Por volta de 1923, de forma acidental ocorreu a descoberta da capacidade de inativação do formaldeído, quando Bárbara Hopkins e Alexander Glenny que faziam estudos para proteger as pessoas contra a difteria, ao estocarem a toxina em recipientes grandes demais para serem esterilizados em autoclave, após limparem os recipientes com formaldeído, perceberam que a toxina em contato com formaldeído havia se tornado muito menos infecciosa (POLLARD

e BIJKER, 2020). Este incidente possibilitou que Gaston Ramon produzisse um antígeno baseado na toxina diftérica inativada por formalina (FERNANDES et al, 2021).

Em 1937, ocorreu um grande desenvolvimento das vacinas, quando o microbiologista sul-africano Max Theiler conseguiu atenuar o vírus da febre amarela ao fazer com que o vírus se desenvolvesse em células não humanas com passagens seriadas por ratos e ovos embrionados de galinha e assim desenvolveu a vacina contra a febre amarela (KIM, et al, 2021). Em 1940, o médico epidemiologista e virologista norte-americano Thomas Francis Jr. foi a primeira pessoa nos Estados Unidos a conseguir isolar o vírus da influenza e a desenvolver uma vacina para a doença. Na mesma linha de vacinas com vírus atenuados, surgiram os imunizantes para sarampo (1963), caxumba (1967), rubéola (1969) e rotavírus (2008) (SCHATZMAYR, 2003). Nos anos 1980, ocorreu novo avanço na tecnologia das vacinas, quando os bioquímicos norte-americanos Richard Mulligan e Paul Berg, da Universidade de Stanford, EUA, desenvolveram a técnica do DNA recombinante, que proporcionou o surgimento de vacinas para Hepatite B (1986), Papilomavírus humano (2006) e Influenza (2013) (FILHO, 2021).

Hoje, a vacinação do Brasil é realizada por meio do Programa Nacional de Imunizações (PNI), criado em 1973 e instituído oficialmente pela lei 6.259/75. Referência internacional no controle e erradicação de doenças infecciosas, o PNI é responsável pela distribuição de vacinas para toda a população por meio do Sistema Único de Saúde. Graças a suas ações, o perfil epidemiológico das doenças imunopreveníveis no Brasil mudou (POLLARD e BIJKER, 2021). Exemplo disso é a extinção da poliomielite e da varíola, e o controle do sarampo, hepatite, rubéola, tétano, entre outras doenças. Um dos maiores programas de vacinação do mundo, o PNI disponibiliza gratuitamente 45 imunobiológicos para diferentes faixas etárias (BUTANTAN, 2021).

#### **4.1.2 Importância das vacinas no contexto da imunização**

Desde o surgimento das primeiras vacinas até as mais atuais, elas vêm transformando a saúde pública e melhorando a qualidade de vida da

população e contribuindo para a redução da mortalidade infantil, especialmente desde que os programas nacionais de imunização se tornaram melhor estabelecidos, a OMS estima que cerca de 3 milhões de vidas são salvas a cada ano a partir dos programas de imunização atuais (POLLARD e BIJKER, 2020).

O desenvolvimento das vacinas ao longo dos últimos dois séculos tem como principal objetivo fornecer proteção direta ao indivíduo imunizado. O objetivo primário da vacinação é proteger o indivíduo e a comunidade de uma infecção ou também impedir o desenvolvimento de formas graves, de modo que o quadro clínico seja mais brando, evitando também, outras consequências, como por exemplo o colapso do sistema de saúde (FERNANDES, et al, 2021).

As vacinas são especiais em relação a outras intervenções de saúde, pois ajudam pessoas saudáveis a se manterem saudáveis. Além de beneficiar não apenas um indivíduo, mas comunidades e populações de países inteiros, além de ter um rápido impacto no sistema de saúde de um país (RIBEIRO,2019).

Quando uma pessoa é vacinada, fica protegida contra aquela doença em questão. E quanto mais pessoas vacinadas em uma comunidade, mais dificuldade o agente patológico tem em circular já que a maioria das pessoas se encontram imunizada. Dessa forma, além de se proteger, protege outras pessoas que não podem ser imunizadas, visto que existem pessoas que possam ter algum tipo de alergia ao componente da vacina ou que tenham alguma patologia que enfraqueça o sistema imunitário e não devem ser vacinadas com certas vacinas (SCHATZMAYR, 2003; OMS, 2021).

Mesmo sabendo que o principal foco do desenvolvimento das vacinas é a proteção direta do indivíduo e este é um dos principais focos dos estudos para que as vacinas possam ser licenciadas, torna-se extremamente explícito que a imunidade coletiva é um ponto adicional chave na imunidade induzida pelas vacinas. Visto que, já que nem todos os indivíduos de uma população podem ser vacinados por diversos motivos, e outros não desenvolvem uma resposta imunológica apesar da vacinação (HOMMA, et al, 2011). Desta maneira, se um número suficiente de indivíduos em uma população for vacinado, e se a vacinação impedir não somente a doença mas também a própria infecção, a transmissão do patógeno pode ser interrompida e a incidência da doença pode cair ainda mais do

que seria de se esperar, como forma de proteção indireta de indivíduos que de outra forma seriam suscetíveis. (POLLARD e BIJKER, 2020).

#### **4.1.3 Plataformas de produção das vacinas**

Plataformas virais: O método mais comum de obtenção de vírus atenuados consiste na promoção de infecções sequenciais de vírus patogênicos em culturas celulares in vitro ou em ovos embrionados. Já quando se trata de vírus inativado, isto ocorre com o auxílio de substâncias químicas que destroem o material genético do vírus impedindo assim sua replicação. Para a produção das vacinas virais, normalmente são utilizados ovos de galinhas embrionados de 10 a 11 dias, esses ovos passam por uma ovoscopia sendo analisados manual ou automaticamente, onde uma luz é colocada no topo do ovo para observar se tem boa vascularização e se o embrião está vivo, se há embriões mortos e se há ovos não fertilizados. Os ovos aptos para produção são inoculados e incubados. Depois de um tempo de incubação os vírus estarão replicados e prontos para coleta do material do líquido amniótico. O material colhido é filtrado e centrifugado, e depois purificado. Em seguida o vírus segue para etapa de inativação e envase. (BUTANTAN, 2021)

Plataformas bacterianas: As vacinas bacterianas podem ser constituídas por células inteiras inativadas, subunidades que se caracterizam por estruturas que fazem parte da célula bacteriana, moléculas purificadas como polissacarídeos capsulares, proteínas nativas ou recombinantes. Os componentes das vacinas bacterianas normalmente são obtidos pelo cultivo da bactéria nativa ou recombinante em biorreatores cujo tamanho pode variar dependendo do rendimento de cada processo adotado. Estes equipamentos buscam simular o ambiente ideal de crescimento bacteriano com foco na possibilidade de obtenção dos antígenos de maneira mais próxima possível de como ele aparece nas diferentes fases da infecção bacteriana. (FIOCRUZ, 2021).

#### **4.1.4 Tipos de vacina**

Atualmente existem diversas classes de vacinas, distintas em origem, composição e imunogenicidade. Dentre elas podemos citar as vacinas virais e as bacterianas (Tabela 1).

Existem diversos tipos de plataformas para a produção de vacinas virais que podem utilizar partes do vírus (ácido nucleico ou proteínas) ou a partícula viral completa. As chamadas plataformas clássicas são aquelas que incluem as **vacinas inativadas, atenuadas**, e as de **natureza proteica** como as de **subunidade e as partículas semelhantes a vírus**. As novas plataformas tecnológicas incluem **DNA recombinante, tecnologia reversa, conjugação química, genômica e proteômica** e resultam na maioria das vacinas recentes, multipatenteadas. A principal vantagem dessas novas formas de plataformas é que elas não dependem do cultivo viral, pois podem ser desenvolvidas com base nas informações das sequências genéticas dos vírus, isso faz com que o processo de produção e a disponibilização das vacinas seja acelerado (ENDO, et al, 2021).

Já com relação as vacinas bacterianas, elas podem ser criadas para aumentar a imunidade contra as próprias bactérias ou contra as suas toxinas. As primeiras, diminuem a capacidade de infecção das bactérias por aumentarem a resistência do organismo contra elas. Já as segundas, neutralizam as toxinas que possam eventualmente produzir. Elas podem ser compostas por polissacarídeos capsulares, exotoxinas proteicas inativadas (toxóides), bactérias mortas ou bactérias vivas atenuadas (LEVINSON, 2016).

**Vacinas vivas atenuadas:** Os primeiros tipos de vacinas desenvolvidas foram as vacinas vivas atenuadas, este tipo de vacina foi o que erradicou a varíola, quase erradicou a poliomielite e contribuiu imensamente para controlar casos de sarampo no mundo todo (SCHATZMAYR, 2003). Uma das principais vantagens desse tipo de vacina é o fato dela possuir atividades adjuvantes intrínsecas, por conta dos diversos epítomos presentes em sua estrutura que também induz a resposta imune, incluindo a imunidade de mucosa, dada a sua habilidade de infectar as células do hospedeiro, mimetizando assim uma infecção natural e produzindo uma memória imunológica duradoura, e por isso não precisa de qualquer adjuvante adicional. Já com relação às desvantagens deste tipo de vacinas é que elas estão associadas a riscos em sua segurança e eficácia, que estão relacionadas a possível reversão para o tipo virulento. Outra preocupação é

com relação a sua estabilidade pois são vírus sensíveis às condições de armazenamento e por isso exigem uma rede de frio muito bem mantida (MINOR, 2015; D'AMICO, et al, 2021; ENDO, et al, 2021). Como exemplos deste tipo de vacina podemos citar as vacinas da Poliomielite oral, febre amarela, sarampo, caxumba e rubéola, varicela.

**Vacinas inativadas:** Este tipo de vacina é preparado a partir da inativação do patógeno por meio de calor, radiação ou uso de compostos químicos como por exemplo a formalina (VETTER, 2018). Quando o vírus é inativado, sua capacidade de se replicar no corpo humano é destruída, porém mantendo todos os antígenos presentes na estrutura viral. O vírus deixa de ser infeccioso por conta da desnaturação de proteínas virais importantes para a fixação e invasão da célula hospedeira. Como desvantagens desse tipo de vacina, podemos citar sua menor eficácia, necessidade de aplicação de múltiplas doses, variedade na resposta imune de acordo com a fonte do antígeno e a necessidade do uso de adjuvantes para estimular o sistema imunológico (SCHATZMAYR, 2003; ENDO, et al, 2021). Exemplos deste tipo de vacina: poliomielite inativada, pertussis celular, covid-19.

**Toxóides:** são preparadas a partir das toxinas que são secretadas pelas bactérias, como por exemplo tétano e difteria. Como principal vantagem temos o fato de ela ter um excelente perfil de estabilidade. Das desvantagens desse tipo de vacinas temos que elas precisam de administrações múltiplas, não são altamente imunogênicas e requerem uma formulação com adjuvante. (D'AMICO, et al, 2021).

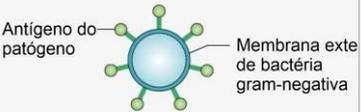
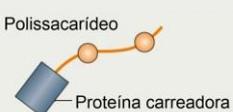
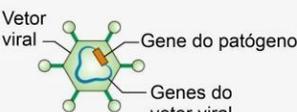
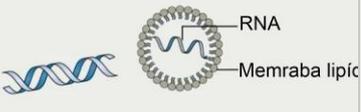
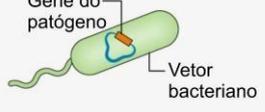
**Vetor recombinante:** são produzidas de maneira que a sequência que codifica o antígeno desejado de um patógeno, seja inserida dentro de outro vetor como um transgene estranho (KARCH e BURKHARD, 2016). A deleção direcionada de genes de replicação do vetor é uma forma não empírica de atenuação que permite a geração de uma grande variedade de vetores virais. Os antígenos que são expressos podem ser liberados no meio extracelular ou direcionados para as vias de processamento intracelular do hospedeiro. Apesar de ser uma vacina que apresenta uma boa imunogenicidade, o fato de ter a presença de um transgene estranho no genoma do vetor pode levar a mutações evolutivas que viriam a diminuir sua imunogenicidade e conseqüentemente sua eficácia.

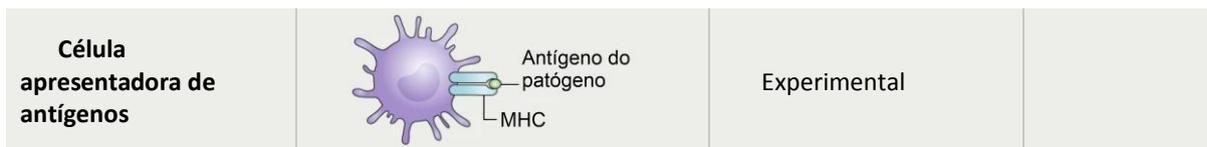
(D'AMICO, et al, 2021; ENDO, et al, 2021). Como exemplos deste tipo de vacina: Covid-19

**Vacinas de subunidades:** são compostas por imunógenos proteicos, ou antígenos, que são geralmente produzidos através de tecnologias recombinantes. Suas principais vantagens é que apresentam um excelente perfil de segurança e podem ser modificados para alterar propriedades facilitando o desenvolvimento de formulações estáveis (KARCH e BURKHARD, 2016). Como desvantagem temos que sua imunogenicidade é limitada quando comparada com vacinas vivas atenuadas. E por isso, muitas vezes requerem a utilização de adjuvantes para aumentar sua eficácia. (D'AMICO, et al, 2021). Exemplos deste tipo de vacina: Hepatite B, Pertussis acelular, Pneumococos, *Haemophilus influenzae* tipo B.

**Vacinas de ácidos nucleicos:** Dentre as principais razões que fazem com que os ácidos nucleicos sejam candidatos atraentes para o desenvolvimento de vacinas para doenças infecciosas e câncer, está no fato de que eles são relativamente simples de serem gerados e seguros de serem administrados, e por isso podem ser adaptadas rapidamente quando um novo vírus surge. Esse tipo de vacina consiste apenas de DNA ou RNA que será captado e traduzido em proteína pela célula hospedeira (KARCH e BURKHARD, 2016). Esta simplicidade em sua composição faz com que apresente várias vantagens imunológicas. Como não estão associados a um revestimento viral, os ácidos nucleicos geralmente não estão sujeitos a reações de anticorpos neutralizantes que podem prejudicar a eficácia clínica de vacinas baseadas em vírus recombinantes. Após a sua absorção e expressão celular os antígenos codificados por ácidos nucleicos podem desencadear respostas imunes humorais e também mediadas por células. Além disso, a falta de um revestimento viral elimina a possibilidade de que as respostas imunes ao revestimento sejam imunodominantes sobre as respostas imunes ao produto transgene desejado. Já existem vacinas baseadas em mRNA aprovadas como vacinas para SARS-CoV2, a exemplo das vacinas da Moderna e da Pfizer/BioNTech (D'AMICO, et al, 2021; RESTIFO, 2008; ENDO, et al, 2021).

Tabela 1 – tipos de vacinas

Tipo de vacina	Ilustração dos vetores	Vacinas licenciadas usando essa tecnologia	Primeira vez utilizada
Vivo atenuado (enfraquecido ou inativado)		Sarampo, caxumba, rubéola, febre amarela, influenza, poliomielite oral, febre tifoide, encefalite japonesa, rotavírus, BCG, varicela zoster	1798 (Varíola)
Organismo inteiro morto		Coqueluche de células inteiras, poliomielite, influenza, Encefalite japonesa, hepatite A, raiva	1896 (Febre tifoide)
Toxóide		Difteria, tétano	1923 (Difteria)
Subunidade (proteína purificada, proteína recombinante, polissacarídeo, polipeptídeo)		Coqueluche, influenza, hepatite A, hepatite B, meningocócica, pneumocócica, febre tifoide,	1970 (Antrax)
Vírus como partículas		HPV	1986 (Hepatite B)
Vesícula de membrana externa		Meningocócica Grupo B	1987 (Meningocócica Grupo B)
Conjugado proteína-polissacarídeo		<i>Haemophilus influenzae</i> tipo B, meningocócica, pneumocócica, febre tifoide,	1987 (Haemophilus influenzae tipo B)
Vetor viral		Ebola	2019 (Ebola)
Vacina de ácido nucleico		SARS-CoV-2	2020 (SARS-CoV-2)
Vetor bacteriano		Experimental	



**FONTE:** Adaptado de POLLARD e BIJKER, 2020.

Sabemos que as vacinas convencionais contribuíram imensamente para o controle de diversas doenças infecciosas no mundo todo, a maioria de nós foi vacinado em diversos momentos da vida, desde o nascimento até a vida adulta. As formulações de vacinas convencionais são bastante eficazes quando se trata de patógenos que conservem o seu perfil antigênico, como por exemplo o sarampo e a caxumba. Já para patógenos que são altamente mutantes como por exemplo o vírus da influenza e pneumococo, existe a necessidade de uma ampliação do conteúdo antigênico ou de administração de novas doses a cada ano. E existe uma preocupação ainda maior com relação a sua ineficácia contra patógenos que alteram seus antígenos após a infecção, a exemplo do HIV. Em adição a todas estas problemáticas temos o fato de que a maioria das formulações de vacinas convencionais e os adjuvantes nelas utilizados são direcionados principalmente para induzir uma resposta imune humoral mediada por células B. Porém em diversos casos as células B sozinhas não são suficientes para lidar com o patógeno e por isso precisam de ajuda de células T auxiliares, já no caso de a infecção do patógeno e o local de residência serem intracelulares seria necessário células T citotóxicas para sua eliminação (DELANY, 2014; D'AMIACO, et al, 2021).

Existem dois principais focos quando se está desenvolvendo as formulações das vacinas utilizadas convencionalmente, que são a estabilidade do produto final, que influenciará nas condições de armazenamento, visto que diversas vacinas utilizadas convencionalmente são administradas por injeção, intramuscular, subcutânea ou intradérmica, e geralmente requerem condições específicas de transporte e armazenamento. E a adição de adjuvantes que irão ajudar a aumentar a imunogenicidade das vacinas, em particular para aquelas baseadas em subunidades, carboidratos e toxóides (CRISCUOLO, 2019; D'AMIACO, et al, 2021).

Desta maneira, existem diversas limitações associadas a vacinas convencionais, e mesmo sabendo dos diversos sucessos alcançados no controle de muitas doenças, entre elas a erradicação da varíola, existe a necessidade de

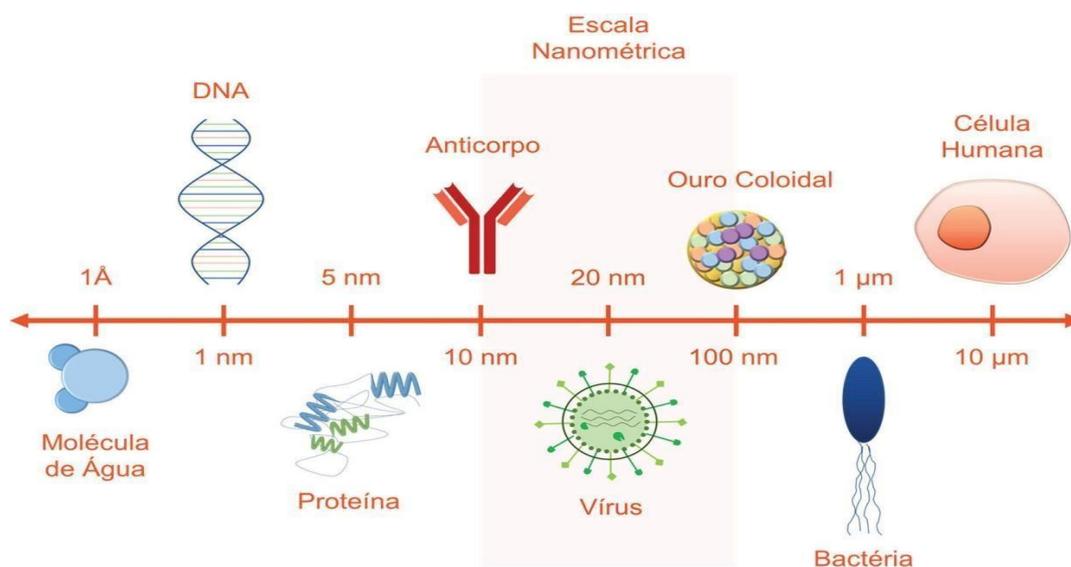
estudos com relação a criação de vacinas melhores e mais seguras. Sendo assim, a formulação de antígenos e adjuvantes que fazem uso de processos nanotecnológicos pode contribuir para resolver diversos tipos de problemas, dentre eles o da estabilidade (D'AMIACO, et al, 2021).

## 4.2 NANOTECNOLOGIA

### 4.2.1 Conceitualização

A nanotecnologia tem a ver com a manipulação de átomos e moléculas com aplicações no mundo real. Em termos de dimensões, um nanômetro (nm) corresponde a um bilionésimo de 1 metro ou um milionésimo de 1 micrômetro, que por sua vez é um milionésimo do milímetro (MOORE, 2019). É algo muito pequeno, porém importantíssimo, visto que é a dimensão física de átomos e moléculas (Figura 1). Quando trabalhamos com algo nessa dimensão de tamanho é o mesmo que estar trabalhando com unidades constituintes da vida, desde átomos e moléculas, até biomoléculas, como proteínas, DNA e enzimas, e formas moleculares mais organizadas como os vírus, e isto é o que faz com que a nanotecnologia seja algo tão importante. (TOMA, 2016)

**FIGURA 1** – Exemplificação das dimensões nanométricas.



**FONTE:** APOLINÁRIO, et al, 2020.

A nanotecnologia fez com que o mundo conceitual se tornasse palpável, permitindo com que átomos e moléculas sejam estudados de maneira a explorar suas atividades mais intrínsecas, como geometria, estrutura eletrônica, condutividade, magnetismo, tudo relacionado a sua natureza individual. Richard Feynman em sua palestra “There’s plenty of room at the bottom” (“Há muito espaço na parte inferior”), proferida no instituto de tecnologia da Califórnia, em 1959, já começava a vislumbrar a possibilidade de exploração das dimensões nanométricas, quando dizia que: (TOMA,2016)

“[...] A última dimensão tecnologicamente explorável pelo homem, que é a escala atômica, será realidade no novo milênio, quando então todos os volumes da famosa *Enciclopédia Britânica* poderão ser compactados em um espaço tão diminuto quanto a cabeça de um alfinete, utilizando caracteres nanométricos, impressos pelos microscópios eletrônicos. Surgirá, então, uma nova tecnologia, capaz de lidar com átomos e moléculas - a Nanotecnologia. (Richard Feynman)”

Utilizando os conceitos de Feynman e os avanços na engenharia genética, Eric Drexler em 1981, veio a propor que as proteínas pudessem ser projetadas de modo a realizar fabricações em nível atômico. Ele publicou o livro intitulado *The Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology*, e fundou um instituto para dirigir o desenvolvimento de nanotecnologia nos anos seguintes, o Foresight Institute. Seu trabalho é considerado um verdadeiro marco e início do campo da nanotecnologia, campo este que passou por um crescimento exponencial nas décadas seguintes (KARCH e BURKHARD, 2016).

O ambiente em que encontramos as nanoestruturas é denominado nanoescala e neste ambiente existe uma física completamente diferente, na qual os fenômenos dominantes são muito distintos daqueles como a inércia que rege os movimentos em macro escala (KIM, et al, 2021). O “movimento Browniano” é o principal fenômeno natural que permeia a nanoescala, ele está intrinsecamente relacionado às perturbações térmicas. São forças fortes e contínuas que deslocam as nanopartículas continuamente sem parar, fazendo com que elas colidam entre si e com as moléculas do ambiente aleatoriamente, sem uma direção definida. (BERTI e PORTO - 2017).

Existem duas definições que são usadas para regulamentar o termo nanotecnologia, a primeira é dada pelo Comitê técnico da Organização Internacional de Padronizações (ISO – TC – International Organization for Standardization – Technical Committee): “*Compreensão e controle da matéria e processos em escala manométrica, em geral – mas não exclusivamente – abaixo de 100nm em uma ou mais dimensões, em que o aparecimento de fenômenos ligados ao tamanho geralmente permite novas aplicações*”. E a segunda é dada pela iniciativa nacional de nanotecnologia nos Estados Unidos (NNI – The National Nanotechnology Initiative): “*Utilização de propriedade dos materiais em nanoescala, a qual difere da escala dos átomos, das moléculas e da matéria a granel, para a criação de melhores materiais, dispositivos, e sistemas que exploram essas novas propriedades*”. Dessa forma, um dispositivo precisa apresentar propriedades diferenciadas associadas a nanoescala, para ser considerado um dispositivo nanotecnológico, não basta ter dimensões nanométricas. (ROZ et al, 2015)

A nanotecnologia oferece potencial para a liberação de medicamentos de forma sofisticada e precisa. Por exemplo, alguns agentes anticancerígenos que são bastante desagradáveis e com efeitos colaterais perigosos podem ter tais efeitos minimizados por uma liberação no local desejado. Em outros usos, compostos insolúveis, poderiam tornar-se mais práticos pela sua preparação em nanoescala, isto é, com moléculas transportadoras permitindo sua passagem por meio de membranas (MOORE,2019)

Nanociência e nanotecnologia dependem da contribuição de uma série de disciplinas, incluindo química, física, ciências da vida e muitas áreas da engenharia. Um dos assuntos em questão é se a nanociência e a nanotecnologia deveriam ser consideradas uma continuação de tendências há muito existentes, ou se representam descontinuidade fundamental na prática da ciência e da tecnologia. A promessa revolucionária da nanociência e da nanotecnologia é o desenvolvimento desses dispositivos funcionais inteiramente novos em nanoescala (MOORE,2019)

Quando pesquisamos sobre nanorrobôs na internet a imagem que encontramos nas pesquisas está muito distante do que uma verdadeira máquina molecular precisa para fazer parte de um ambiente tão específico. Os reais

nanorrobôs são projetados com biopolímeros, têm consistência mole e articulações flexíveis, adaptáveis a ambientes molhados, muito parecidos com bactérias e vírus. Recentemente, usando a técnica de nano-origami - uma técnica de automontagem de estruturas de DNA com base na combinação e interação de pares de nucleotídeos, pesquisadores criaram nanorrobôs programáveis, capazes de se locomover e entregar medicamentos em células. (ENDO e SUGIYAMA, 2018). A primeira geração de nanomedicamentos/nanofármacos é o Abraxane, um medicamento para o tratamento do câncer (BHARDWARJ, 2020). O Abraxane é a formulação em nanoescala do paclitaxel; a Doxorubicina, e sua formulação contém os ativos Caelyx ou Doxil encapsulados em lipossomas (nanocarreadores feitos de biocamadas de lipídio automontadas) e o Cimzia (certolizumab pregol), outro agente constituído de um anticorpo (proteína) anexado a uma molécula polimérica sintética. Por ser nanoencapsulado por moléculas de lipídio, esse medicamento tem seus efeitos colaterais reduzidos, além de contribuir para que o tratamento se concentre nos tecidos e regiões enfermas (BERTI E PORTO - 2017).

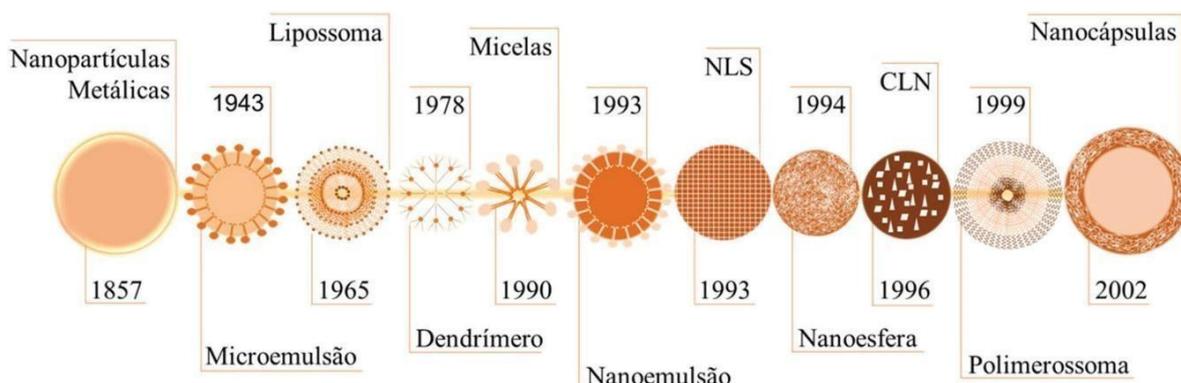
Desse modo, nanotecnologia é o termo utilizado para descrever a engenharia de sistemas em escala molecular. Mais especificamente o termo se refere à habilidade de se projetar, construir ou manipular dispositivos, materiais e sistemas funcionais em escala manométrica. Esses objetos em nanoescala são compostos por diversos tipos de materiais, que podem incluir: polímeros orgânicos, polímeros inorgânicos e macromoléculas biológicas. Os materiais em nanoescala podem ter diversas implicações biomédicas, como por exemplo o uso como sensores biológicos, sistemas de direcionamento de células, sistemas de distribuição de drogas e como portadores de vacinas de subunidade (ROZ et al, 2015; KARCH e BURKHARD, 2016).

#### 4.3 PRINCIPAIS NANOSSISTEMAS USADOS COMO VACINAS

Com base no uso potencial dos nanomateriais, eles podem ser usados de diversas maneiras, como por exemplo: adjuvantes, imunógenos, ou nanocarreadores para entrega antigênica aprimorada e controlada. Diferentes tipos de nanopartículas foram produzidos ao longo dos anos usando proteínas, lipídios,

polímeros ou partículas inorgânicas para induzir uma estimulação imunológica (Figura 2) (BHARDWAJ, 2020).

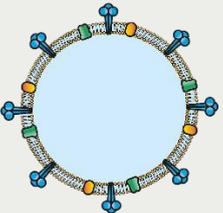
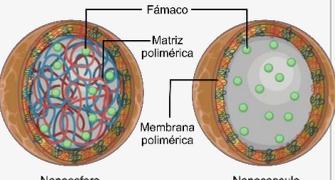
**FIGURA 2 – LINHA DE TEMPO DE DESCOBERTA DOS NANOSSISTEMAS**

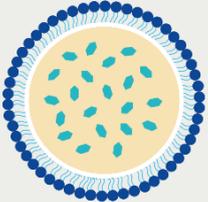
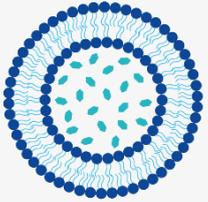


**FONTE: APOLÍNÁRIO, et al, 2020.**

As nanovacinas podem ser divididas em diversas classes, baseando-se em diferentes parâmetros como por exemplo, forma, origem, tamanho, recursos e construção estrutural (Figura 3). Oferecendo assim aos cientistas a possibilidade de desenvolvimento de novas abordagens e aplicações em nanovacinação. (HEMANT, 2018)

**FIGURA 3 – VANTAGENS E DESVANTAGENS DOS PRINCIPAIS NANOSSISTEMAS**

Nanossistema	Composição	Vantagem	Desvantagem
<p>VLPs</p> 	Formados pela automontagem de proteínas do capsídeo biocompatíveis, sem ácido nucleico infeccioso.	Alta segurança; Respostas imunes mais potentes, mesmo na ausência de adjuvantes.	
<p>Nanopartículas poliméricas</p> 	Polímeros naturais sintéticos e semissintéticos.	Alta estabilidade de armazenamento; só é necessária uma pequena dose; melhora o sistema imunológico (humoral e celular)	O efeito das propriedades dos polímeros são desconhecidos.

<p>Nanopartícula lipídica sólida</p> 	<p>Lipídios em estado sólido, tensoativos, água e fármaco.</p>	<p>Excelente estabilidade físico-química; Atoxicidade; Liberação controlada; facilidade de produção em larga escala.</p>	<p>Instabilidade em períodos longos de tempo.</p>
<p>Lipossoma</p> 	<p>Constituídos por uma bicamada lipídica com uma parte hidrofílica, outra hidrofóbica e um núcleo aquoso.</p>	<p>Biodegradáveis; Não tóxicos; podem incorporar tanto moléculas hidrofílicas quanto hidrofóbicas; versatilidade e biocompatibilidade.</p>	<p>Instabilidade física durante armazenamento e administração.</p>

#### 4.3.1 Vírus como Partículas

As partículas semelhantes a vírus (VLPs - Vírus like particles) são nanopartículas de automontagem, sem ácido nucleico infeccioso, formadas pela automontagem de proteínas do capsídeo biocompatíveis (D'AMIACO, et al, 2021). Basicamente são nanoestruturas semelhantes ao vírus real e que são capazes de mimetizá-los, mas como não causam infecção por falta de componente genético do vírus, podem ser utilizadas como método de imunização ativa capaz de induzir um alto grau de proteção, melhorando a produção de epítopos de células B e T, o que é considerado mais benéfico quando comparado às técnicas de imunização passiva (YADAV, 2018). A profilaxia com VLPs é muito eficaz pois é altamente segura, tem capacidade de penetração através das células e tecidos do hospedeiro e tem sido usada de forma produtiva como vacina para aumentar a imunidade humoral e celular. (ZHAO, 2014)

Uma das grandes vantagens deste tipo de nanossistema é o fato de eles aproveitarem o poder da estrutura viral evoluída, que é naturalmente otimizada para interação com o sistema imunológico, porém evitando os componentes infecciosos, pegando desta maneira os aspectos bons dos vírus e evitando os ruins. (KARCH e BURKHARD, 2016). O tamanho das nanopartículas otimizadas e a

ordem estrutural repetitiva significam que as VLPs induzem respostas imunes mais potentes, mesmo na ausência de adjuvantes. Com tamanhos variando entre 20 nm a 800 nm elas podem ser derivadas de uma variedade de vírus e podem ser fabricadas em uma variedade de processos. A principal abordagem de fabricação envolve uma rota *in vivo*, onde a montagem das proteínas do capsídeo em VLPs ocorre dentro do hospedeiro de expressão. Depois da partícula montada ela é purificada de contaminantes aderentes e encapsulados, e em alguns casos faz-se necessário desmontar e remontar o VLP para melhorar sua qualidade. (ZHAO, 2014).

As vacinas baseadas em VLPs foram as primeiras classes de nanopartículas a chegar no mercado, em 1986 a vacina VLP para o vírus da hepatite B foi a primeira vacina a ser comercializada e foram amplamente administradas em populações saudáveis (FRIES, et al, 2020). Outras vacinas baseadas em VLP foram aprovadas mais recentemente para uso em humanos, para papilomavírus em 2006 e hepatite E em 2011. As VLPs comercializadas até o momento são baseadas na automontagem de proteínas derivadas do vírus alvo, no entanto elas também podem atuar como plataforma de entrega onde um antígeno alvo de um vírus não relacionado ao VLP usado é modularizado na superfície de uma VLP (ZHAO, 2014).

#### **4.3.2 Nanopartículas poliméricas**

De acordo com RAWAT (2006), as nanopartículas poliméricas são sistemas coloidais compostos por polímeros naturais, sintéticos e semissintéticos, que podem ser usados para liberação de fármacos já que permitem realizar a liberação dos mesmos de forma controlada, direcionando-os para sítios específicos.

As nanopartículas podem ser de dois tipos diferentes: As nanocápsulas onde podemos observar um núcleo líquido diferenciado como óleo ou água, sendo rodeado por um material sólido chamado de invólucro polimérico. E as nanoesferas poliméricas, onde as substâncias ativas encontram-se distribuídas no interior da matriz, sendo liberada por difusão, podendo ainda encontrar-se adsorvidas à superfície da nanoesfera (PRATA, 2011).

Nanocápsulas são estruturas nanométricas entre 50 nm e 300 nm, compostas de um núcleo e um revestimento. O ativo farmacêutico fica confinado no núcleo interno, envolta pela casca polimérica. Elas demonstram as vantagens de alta carga de fármacos, liberação controlada e distribuição direcionada de fármacos (HAN, 2018). São geralmente preparadas por revestimentos de polímeros, método de camada por camada, nanoprecipitação, difusão de emulsão, coacervação de emulsão, evaporação de emulsão e emulsificação dupla (SERAG, 2021). As nanoesferas são estruturas esféricas menores, de 10 nm a 200 nm de diâmetro, onde o ativo farmacêutico está uniformemente disperso no sistema da matriz. Este tipo de nanocarreador apresenta características aprimoradas dependentes do tamanho, e tem a capacidade de evitar a degradação do fármaco (HAN, 2018). Elas também oferecem entrega específica do local e os perfis de liberação do medicamento necessários. Podem ser preparadas usando evaporação de solventes, técnicas de deslocamento de solvente de polimerização e métodos de temperatura de inversão de fases (CHAKRAVARTY e VORA, 2020).

As nanopartículas poliméricas possuem geralmente antígenos revestindo a sua superfície, esta técnica está sendo considerada uma das mais eficazes em termos de nanovacinação. A vacinação utilizando a técnica de nanoesferas tem sido muito eficaz e bem-sucedida devido a diversas vantagens como ter uma alta estabilidade para o armazenamento e só precisa de uma pequena dose do antígeno para que possa funcionar. (HEMANT, 2018).

Em comparação com outros nanossistemas lipídicos, as nanopartículas poliméricas podem incorporar mais facilmente biomoléculas hidrofílicas e hidrofóbicas e ter uma melhor estabilidade de armazenamento. Os polímeros mais amplamente utilizados são o PLG [poli (D, L-lactídeo-co-glicolídeo)], PLA (polilactídeo) e PLGA [poli (D, L-lactídeo-co-glicólido)]. Todos estes, aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos para uso em humanos, devido aos seus excelentes perfis de segurança (RHEE, 2020).

Neste tipo de nanossistema, os antígenos podem ser aprisionados ou adsorvidos à superfície das partículas e são protegidos da degradação proteolítica, fazendo com que tenha meia vida mais longa *in vivo*. Através de uma simples engenharia adicional, eles podem ser regulados para liberar ou degradar cargas

(adjuvantes e/ou antígenos) em uma ampla gama de taxas de liberação (RHEE, 2020).

Segundo Peres 2017 (apud RHEE, 2020), O PLA é um poliéster alifático linear composto de blocos de construção de ácido lático que são ácidos orgânicos de ocorrência natural derivados da cana de açúcar e do amido de milho. Estes polímeros podem ser facilmente modificados quimicamente com diferentes ligantes para melhorar sua especificidade para a célula alvo. Mesmo tendo muitas vantagens físico-químicas e farmacêuticas, o PLA não é tão utilizado com o PLGA, seu copolímero no desenvolvimento de vacinas em estágio clínico (RHEE, 2020).

O PLGA é um dos biopolímeros degradáveis mais bem desenvolvidos com sucesso, suas nano/micropartículas são exploradas como transportadores para a entrega controlada de terapêuticas macromoleculares como proteínas, peptídeos, vacinas, genes, antígenos e fatores de crescimento (HAN, 2018). O PLGA tem excelente biodegradabilidade e biocompatibilidade, formulações bem descritas e métodos de produção adaptados a diversos tipos de bioativos, como pequenas moléculas e macromoléculas hidrofílicas ou hidrofóbicas, proteção do fármaco contra degradação e possibilidade de liberação sustentada, tudo isto faz com que este polímero ganhe muita atenção no mercado. (RHEE, 2020).

Existem muitos antígenos de vacinas diferentes que foram encapsulados em nanopartículas de PLGA e demonstraram induzir respostas imunes amplas e potentes. Como exemplo, temos as vacinas terapêuticas da hepatite B que foram projetadas e formuladas carregando o antígeno central da hepatite B (HBcAg) em nanopartículas de PLGA de 300 nm, com ou sem adjuvante monofosfolipídico-A (MPLA). Uma única imunização com nanopartículas de PLGA encapsulando HBcAg contendo MPLA induziu uma resposta imune celular mais forte do que aquelas induzidas por HBcAg sozinho ou por HBcAg associado com MPLA em um modelo murino. Mais importante ainda, o nível de respostas imunes específicas de HBcAg poderia ser significativamente aumentado ainda mais por uma imunização de reforço com as nanopartículas de PLGA. Estes resultados sugeriram que a co-entrega de HBcAg e MPLA em nanopartículas de PLGA promoveu respostas imunes celulares específicas de HBcAg. Esses achados sugerem que o desenho apropriado da formulação da vacina e o planejamento

cuidadoso do calendário de imunização são importantes para o desenvolvimento bem-sucedido de vacinas terapêuticas eficazes para o vírus da hepatite B (ZHAO, 2014).

Outro exemplo para o uso de PLGA é o seu uso para encapsulamento do antígeno do vírus da parainfluenza 3 bovino (BPI3V) como uma nanovacina intranasal. Sua resposta imune foi comparada a versão atual utilizada em bezerros leiteiros. E a resposta imune induzida precoce, após a administração da vacina de nanopartículas, demonstrou crescimento contínuo até o final do estudo, enquanto isso nos grupos de vacina de antígeno simples não foram observados resultados semelhantes (SEYFOORI, 2021).

### **4.3.3 Nanopartículas lipídicas**

#### **4.3.3.1 Nanopartículas lipídicas sólidas**

As nanopartículas lipídicas sólidas foram desenvolvidas em 1991, como um sistema alternativo de encapsulação de princípios ativos em relação aos sistemas coloidais tradicionais. São compostas por lipídios no estado sólido, tensoativos, água e pelo fármaco que se pretende incorporar. Seu grande diferencial é que ela tem uma excelente estabilidade físico-química, o que proporciona uma maior proteção contra degradação de fármacos lábeis (MARTA, 2014). Devido ao seu tamanho reduzido, que pode variar de 50 nm a 1000 nm, elas podem ser utilizadas em todas as vias de administração como a oral, parenteral e cutânea. Diversos métodos de produção permitem que as nanopartículas sólidas possam incorporar tanto princípios ativos lipossolúveis quanto hidrossolúveis (TAVEIRA, 2009). Todavia, devido à natureza lipídica de sua matriz, elas são particularmente adequadas para veicular princípios ativos apolares, para os quais evidenciam uma capacidade de carga elevada. A preparação das nanopartículas sólidas pode ser feita através de fusão-emulsificação, emulsificação-evaporação do solvente, ou a partir de microemulsões (SOUTO, 2011).

Este tipo de nanossistema oferece diversas vantagens, dentre elas destaca-se a possibilidade de uma liberação controlada e alvo específica de fármacos nela encapsulados, o aumento da estabilidade destes fármacos, a

atoxicidade de seus componentes, a não utilização de solventes orgânicos em sua produção, além da facilidade de produção em larga escala e de esterilização (MARTA, 2014). Seu núcleo é formado por lipídios sólidos à temperatura ambiente, o que confere menor mobilidade dos princípios ativos neles incorporados podendo sustentar, ou até controlar, a velocidade de liberação destas substâncias (SOUTO, 2011). Uma das desvantagens encontradas no desenvolvimento das nanopartículas lipídicas sólidas é a sua instabilidade por longos períodos de tempo. A expulsão do fármaco pode ocorrer durante o período de estocagem da formulação, principalmente devido à composição das partículas e de seus processos de produção (TAVEIRA, 2009).

Os lipídios mais utilizados na produção de nanopartículas lipídicas sólidas são os triglicerídeos (triestearina), glicídios parciais (monoestearato de gliceril), ácidos graxos (ácido esteárico), esteróis (colesterol), e ceras (cetilpalmitato). São utilizados também diversos emulsificantes e polímeros, como os sais biliares (taurodeoxicolato), lecitinas e copolímeros do polióxidoetileno e polioxidopropileno (poloxamer) para evitar a agregação de partículas e estabilizá-las (TAVEIRA, 2009).

Estudos demonstram que as nanopartículas lipídicas sólidas podem ser utilizadas para distribuir antígenos vacinais através de mucosas. Elas têm sido usadas para a entrega do antígeno da hepatite B por via retal, e tem demonstrado forte e robusta imunidade sistêmica da mucosa em comparação com a imunização parenteral (THAKUR e FOGED, 2020).

#### 4.3.3.2 Lipossomas

Os lipossomas são semelhantes à membrana plasmática, são constituídos por uma bicamada lipídica com uma parte hidrofílica, outra hidrofóbica e um núcleo aquoso (YADAV, 2018). Por conta de sua estrutura, os lipossomas oferecem uma grande gama de opções para o projeto de formulação de vacinas. Diversos componentes, como por exemplo as proteínas, os peptídeos, DNA, RNA e componentes adjuvantes podem ser encapsulados no núcleo aquoso dos lipossomas, embutidos na camada lipídica ou fixados na superfície por adsorção, inserção de âncora hidrofóbica ou fusão covalente (ZHAO, 2014). Eles são

considerados não tóxicos e biodegradáveis principalmente quando são usados com fosfolipídios, já que são componentes naturais das membranas das células dos mamíferos (THAKUR e FOGED, 2020). Os lipossomas podem encapsular o antígeno dentro do núcleo para entrega e incorporar glicoproteínas do envelope viral para formar virossomas, incluindo para influenza (RHEE, 2020). Segundo MARCIELLO et al., 2016, os lipossomas foram descritos pela primeira vez por BANGHAM & HORNE (1964), sua principal vantagem está no fato de poder incorporar tanto moléculas hidrofílicas quanto hidrofóbicas, até mesmo simultaneamente. Outras vantagens consistem em prevenir a degradação de biomoléculas incorporadas, redução da toxicidade de fármacos, aumento da eficácia terapêutica, versatilidade e biocompatibilidade (Apud DANIEL, 2017).

A síntese deste tipo de nanossistema ocorre espontaneamente de maneira que a hidratação de lipídios induz a formação da bicamada lipídica em meio aquoso (THAKUR e FOGED, 2020). Estes também podem ser sintetizados artificialmente ou secretados por células como por exemplo os exossomos e isolados. A versatilidade deste tipo de material pode ser explorada para permitir a encapsulação de substâncias hidrofílicas e hidrofóbicas, a integração de frações carregadas para promover a encapsulação dos antígenos e a inclusão de ligantes de direcionamento que promovem a absorção por APCs (YENKOIDIOK-DOUTI, 2020).

Lipossomas catiônico de DNA (LPD) são um sistema de administração de adjuvante comumente usados em estudos de vacinas de DNA (RHEE, 2020). Elas são produzidas através de uma combinação de lipossoma catiônico modificado de\_1,2-dioleoil-3-trimetilamônio propano (DOTAP) e um polímero catiônico (geralmente protamina) condensado de DNA. Estes componentes do LPD se organizam espontaneamente em uma nanoestrutura com cerca de 150 nm de tamanho com DNA condensado localizado dentro do lipossoma. Os lipossomas modificados com maleimida podem ser sintetizados em vesículas multilamelares reticuladas entre camadas (ICMVs) por fusão conduzida por cátions e reticulação permitindo a liberação retardada do antígeno aprisionado. Inflexal® V e Epaxal® são exemplos de sistemas de lipossomas que foram estabelecidos e aprovados para uso humano (ZHAO, 2014)

#### 4.4 NANOVAZINAS

As vacinas possuem diversos componentes, dentre os quais os principais deles são o antígeno que é o alvo da resposta imune, e o adjuvante que vem a ser uma substância coadministrada que será responsável por potencializar e/ou modular a resposta imune contra determinado antígeno (POLLARD e BIJKER, 2020).

Muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos acerca do potencial que as nanopartículas têm para serem utilizadas como adjuvantes em vacinas (AKAGI, 2011). Esses adjuvantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, ao serem incorporadas à formulação de uma vacina, atuam para acelerar, prolongar, ou ainda, aumentar a qualidade e a especificidade da resposta imunológica a um determinado antígeno (FRIES et al, 2021). Em muitos casos esses adjuvantes podem intensificar a resposta imune do antígeno que sozinho poderia ter uma imunogenicidade fraca. E dessa forma, muitos antígenos podem ser beneficiados por essas ações específicas dos adjuvantes, pois eles poderão facilitar o direcionamento e/ou o controle da liberação dos antígenos para as células apresentadoras de antígeno (PRATA, 2011).

Grande parte das vacinas de nova geração que estão em desenvolvimento na atualidade tem como base as subunidades purificadas, proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos. Normalmente essas vacinas são muito seguras e com componentes bem definidos, porém esses antígenos são fracamente imunogênicos e por isso precisam do uso de adjuvantes e sistemas de entrega para induzir respostas imunológicas ideais (AKAGI, 2011). Até pouco tempo os únicos adjuvantes aprovados para uso humano eram os do tipo alumínio, como os sais de hidróxido e fosfato de alumínio e cálcio. No entanto eles tem algumas desvantagens para a vacinação, como por exemplo, o fato de eles não serem eficazes para todos os antígenos, podem induzir respostas locais, podem induzir respostas de anticorpos IgE e geralmente falham em induzir imunidade mediada por células (BREWER, 2006).

As nanopartículas têm sido consideradas uma abordagem promissora para o desenvolvimento de vacinas, visto que podem ser utilizadas tanto como

carreador do antígeno quanto se comportar como adjuvantes em diversos casos. As vacinas baseadas em nanotecnologia também podem proteger os antígenos contra a degradação prematura e oferecer liberação controlada, uma melhor estabilidade do antígeno, e fornecer entrega direcionada de um imunógeno, assim como também pode aumentar o período de exposição ao antígeno e captação pelas células apresentadoras de antígeno (CAMPOS, 2020).

Através dos avanços no campo da nanotecnologia, as nanovacinas têm sido exploradas através da combinação de antígenos específicos de patógenos com nanomateriais sintéticos ou naturais para que uma resposta imunológica controlada possa ser induzida. Para isso é necessário o uso de subunidades do patógeno como os peptídeos, proteínas, membranas, polissacarídeos, cápsulas e toxinas pois as vacinas que possuem essas subunidades possuem mais segurança, resposta imune controlada e proteção contra diversas cepas patogênicas (BHARDWAJ, 2020).

Um benefício muito importante quando se fala no uso da nanotecnologia para o desenvolvimento de vacinas é que as nanovacinas resultantes desse processo podem ser projetadas para serem sistemas eficazes de entrega de antígenos (RHEE, 2020). Diversos tipos de materiais têm sido testados para desenvolver vacinas candidatas eficazes. A diversidade no campo da nanotecnologia levou ao desenvolvimento de diferentes abordagens para as nanovacinas, cada uma delas com suas próprias vantagens e desvantagens (KARCH E BURKHARD, 2016).

As nanopartículas são capazes de interagir com mecanismos imunológicos, que irão induzir respostas imunológicas celulares e humorais. As nanopartículas de liberação controlada de antígenos podem causar uma estimulação por um período maior fazendo com que as nanovacinas possam ser usadas de maneira profilática ou terapêutica fazendo com que sua administração possa ocorrer antes ou após a incidência da doença (BHARDWAJ, 2020) (CAMPOS, 2020). Tanto nas abordagens profiláticas quanto na abordagem terapêutica as nanopartículas são utilizadas como sistema de entrega para aumentar o processamento do antígeno e/ou como um adjuvante imunoestimulante para ativar ou aumentar a imunidade. Os estudos em nanovacinas terapêuticas estão sendo aplicados principalmente para o tratamento do câncer, e está sendo

cada vez mais explorada para tratar outras doenças ou condições como por exemplo o Alzheimer, hipertensão e dependência a nicotina. Já com relação as nanovacinas profiláticas, elas têm sido estudadas para a prevenção de diversas doenças, e uma série delas foi aprovada para uso em humanos e muito mais estão em ensaios clínicos e pré clínicos (ZHAO, 2014).

As nanovacinas que são usadas de maneira profilática são administradas antes do início da doença, seu objetivo é desenvolver resposta imunogênica contra certos tipos de infecções. Porém, o principal desafio é obter resposta imunogênica suficientemente duradoura. Como exemplo podemos citar a imunização em dose única de camundongos com nanopartículas de polianidro contendo proteína A d superfície pneumocócica (PspA, um fator de virulência de *S. pneumoniae*, ativou a imunidade protetora e aumentou a sobrevivência dos animais após o desafio, mesmo com uma redução de 25 vezes na dose. (WAGNER-MUÑIZ, et al, 2018; BHARDWAJ, 2020).

Já as nanovacinas de origem terapêutica são aquelas que serão administradas após o início da doença, e desta maneira irão estimular o sistema imunológico a lutar contra as condições prevalentes. Respostas imunológicas únicas são geradas contra antígenos específicos das doenças. A especificidade das vacinas terapêuticas é uma das vantagens de utiliza-la ao invés do tratamento convencional. Complexos de pMHC mono específicos e relevantes para a doença, quando revestidos em superfícies de nanopartículas vieram a desencadear a expansão seletiva de CD8<sup>+</sup> auto-regulatório semelhante as células T de memória que surgem apenas em indivíduos afetados (TSAI, et al, 2010). Essas nanopartículas projetadas têm o potencial de se tornarem vacinas adequadas com a capacidade de resolver respostas autoimunes específicas de órgãos e doenças. A distribuição sistêmica do complexo de nanopartículas de peptídeo-MHC relevantes para o diabetes tipo I desencadeou a expansão das células T auto-regulatórias de memória e suprimiu o ataque autoimune contra as células beta produtoras de insulina, restaurando assim o equilíbrio da glicose (CLEMENTE-CASARES, et al, 2011)

As respostas que são geradas pelas nanovacinas geralmente são mais específicas e amplificadas quando comparadas às vacinas tradicionais, mesmo tendo um mecanismo semelhante de ativação imune (AL-HALIFA, et al,

2019). Um exemplo importante é a imunização com a vacina atenuada *Bacillus Calmette Guerin* (BCG) que em crianças, pode fornecer imunidade protetora contra tuberculose grave, porém a eficácia da vacina é baixa e não protege contra aquisição de tuberculose. Um estudo recente em macacos com a vacina BCG indicou que, quando vacinados por via intravenosa 90% deles estava protegido contra o desafio com *M. tuberculosis*, sugerindo que a eficácia da vacinação BCG pode ser amplificada (FRIES, et al, 2020). A resposta imune que acontece pelo antígeno que está associado a nanopartículas geralmente ocorre por conta da sua capacidade de direcionar especificamente as células dendríticas com captação celular e apresentação de antígenos aumentada. Além de poderem também ser utilizadas como adjuvantes com antígenos específicos ou como imunógenos. (BHARDWAJ, 2020).

O fato de encapsular os antígenos livres dentro de nanopartículas faz com que sua degradação possa ser evitada e pode fornecer liberação controlada e prolongada no local alvo. Quando as superfícies das nanopartículas são cobertas com antígenos isso faz com que os antígenos sejam apresentados às células de forma semelhante a que são apresentadas pelos patógenos. (BHARDWAJ, 2020). No projeto de desenvolvimento de vacina eficaz contra HIV, peptídeos imunogênicos foram incluídos no projeto de nanopartículas de polissacarídeos constituído de quitosana e ácido hialurônico e foram coadministrados com poliinosínico: ácido policitídílico. Este sistema resultou em forte resposta imunogênica e humoral (CHAKRAVART e VORA, 2020).

As nanopartículas podem atuar como melhores adjuvantes quando comparadas ao adjuvante de Freund completo e os sais convencionais contendo alumínio, pois elas apresentam atividade imunomoduladoras como ativação de inflamação, ativação do sistema complemento e recrutamento de células imunes. (BHARDWAJ, 2020). Estudos com um sistema nanocarreador multifuncional de uma arquitetura core-corona, consistindo em um núcleo de óleo para carregar moléculas imunoativas, cercado por um envelope polimérico de quitosana montado com antígeno de superfície de hepatite B recombinante foi projetado em tentativa de fazer uma formulação de vacina de dose única e eliciar uma ação de imunoproteção mais duradoura e evitar o uso de alúmen como adjuvante (CHAKRAVART e VORA, 2020).

Um dos principais problemas relacionados as nanovacinas é o fato de existirem problemas de toxicidade significativos associados aos nanocarreadores quando usando materiais inorgânicos. Alguns relatórios de toxicologia demonstram que a exposição a partículas derivadas da nanotecnologia pode representar sérios riscos à saúde. Como por exemplo, a exposição de queratinócitos humanos a nanotubos de carbono de parede única insolúveis foi associada a estresse oxidativo e apoptose (RHEE, 2020). Quando se trata de nanopartículas injetadas por via intravenosa, a questão da toxicidade se torna ainda mais preocupante, uma vez que o tamanho das partículas determina parcialmente a distribuição nos tecidos. Como pode-se saber o destino final dos nanocarreadores e seus constituintes no organismo, em especial aqueles que não são biodegradáveis como por exemplo os nanotubos de carbono funcionalizados ou agentes de revestimento como o poli (etilenoglicol)? Como saber se esses constituintes ou seus produtos podem exercer efeito contrário ao desejado, trazendo atividades imunológicas e farmacológicas desfavoráveis? (MOGHIMI, et al, 2005).

O tamanho das nanopartículas pode funcionar como uma faca de dois gumes, visto que relatórios clínicos e pré-clínicos relataram suas toxicidades agudas e crônicas dose-dependentes com bioacumulação preferencial dependendo da via de administração (D'AMIACO, et al, 2021). Poucas classes de nanopartículas possuem toxicidade inerente após exposição prolongadas como nanopartículas inorgânicas, por exemplo as nanopartículas metálicas. Além disto os imunoestimuladores estão sendo usados em várias vacinas para animais, mas a toxicidade associada aos adjuvantes à base de saponina proibiu seu uso em humanos. Deste modo, ainda existem muitas preocupações acerca das nanopartículas para vacinas a serem resolvidas (BHARDWAJ, 2020).

Outra desvantagem das nanovacinas é o fato de o procedimento de produção ser um pouco complicado e requerer uma série de máquinas e ferramentas, fazendo com que o processo de produção se torne muito caro (APOLINÁRIO, et al, 2020). Com relação ao sistema de entrega lipossomal, uma das grandes desvantagens é que na formação das nanovacinas há uma tendência das nanopartículas se agregarem durante o armazenamento. O comportamento da nanovacinas *in vivo* é um grande desafio para os cientistas desenvolverem novas nanovacinas, pela falta de fundamento para entender ao final os diferentes

materiais das nanovacinas que são utilizados como: ouro, fosfato de cálcio, sílica, precisam ser examinados antes de cada uso, o que consome muito tempo, esforço e material (YADAV, et al, 2018).

#### 4.5 MERCADO E TESTES CLÍNICOS

Muitas empresas farmacêuticas estão direcionando a produção de seus produtos para a produção de produtos nanotecnológicos e vacinação. As nanopartículas usadas para produção de vacinas estão sendo colocadas em uso e gerando uma ampla gama de nanovacinas com várias aplicações. Algumas ainda estão nos estágios iniciais dos testes clínicos, enquanto outras já chegaram ao mercado e estão sendo utilizadas.

A profilaxia utilizando VLPs é segura e eficaz, pois tem alta capacidade de penetração através das células e tecidos do corpo do hospedeiro e tem sido usada como vacina de forma produtiva para aumentar a imunidade humoral e celular. Diversas delas já foram licenciadas e chegaram ao mercado com sucesso, a exemplo da Reoviridae que é usada contra o Rotavírus. HPV 16/18 é outro exemplo de VLPs que mostra resultados ajudando a diminuir a carga de câncer cervical (YAN, 2015).

Estudos com nanopartículas revestidas em sua superfície também demonstram resultados promissores, experimentos em camundongos demonstraram a capacidade dos epítopos de células T CD8 de se conjugarem a nanoesferas para diminuir o crescimento de tumor e fornecer proteção imunológica (YADAV, 2018).

Os lipossomas apresentam uma ampla gama de opções para o projeto de formulação de vacinas. Por conta de sua estrutura, eles podem encapsular diversos tipos de componentes e adjuvantes dentro do núcleo aquoso, incorporá-los na camada lipídica ou fixa-los à superfície por adsorção, inserção de âncora hidrofóbica ou fusão covalente (RHEE, 2020).

As tabelas 2 e 3 apresentam alguns exemplos de vacinas, seus nanocarreadores e os estados clínico dos respectivos estudos. Na tabela 4, são apresentados os nanocarreadores de vacinas já aprovadas para comercialização.

Tabela 2 – NANOCARREADORES DE VACINAS EM ESTUDOS PRÉ CLÍNICOS

VACINAS EM ESTUDO PRÉ CLÍNICO		
DOENÇA DIRECIONADA	NANOCARREADOR	ANTÍGENO EXPLORADO
Gripe	VLP do Fago T7	HA, M2e
Gripe	Gaiola de ferritina humana	M2e
Gripe	Nanopartículas de peptídeos de automontagem de $\alpha$ -hélice	M2e/CFA +IFA
Gripe	Nanopartículas de ouro	Porção extracelular da proteína M2 (Vírus influenza)
Malária	Nanopartícula de proteína de automontagem (SAPN)	FMP014
Malária	Nanopartículas de óxido de ferro	Proteína de superfície de merozoíta
Malária	Nanopartículas de ouro	Pf CSP (P. falsiparum)
HIV	Nanopartículas de peptídeos de automontagem de $\alpha$ -hélice	2F5, 4E10/IFA
HIV	Nanopartículas de ouro	Plasmídeo env HIV-1
HIV	Nanopartículas de ouro	HIV Gag p17 e CMV pp65
HIV	Nanopartículas de quitosana e ácido hialurônico	Peptídeo PCS
Tuberculose	Nanopartículas de quitosana	DNA que codifica epítomos de células T de Esat-6 e FL
Pneumonia	Fago Q $\beta$	Tetra sacarídeo / adjuvante de célula NKT
Pneumonia	Nanopartícula de polianidro	Proteína de superfície pneumocócica A (PspA)
Vírus sincial respiratório	Lipossoma	Proteína envelope (E)
Infecção respiratória	PLGA micro/nano	EP67 conjugado com epítomo MCMV CTL
Hepatite B	Nanoesferas de poli (ácido D, L-láctico-co-glicólico)	Antígeno de superfície da hepatite B
Toxoplasmose	Nanopartículas de peptídeos de automontagem de $\alpha$ -hélice	5 epítomos de células TCD8+/PADRE, flagelina, GLA-SE
Infecções por estreptococos do grupo A (GAS)	PLGA	Vacina candidata à base de pipopetídeo (LCP-1)
Dengue	Lipossomas	Proteína envelope (E)
Antraz	Nanoesferas de poli (ácido D, L-láctico-co-glicólico)	PAD4
Doença de Newcastle	Nanopartículas de quitosana	Vacina de vírus vivo
Tétano	Nanopartículas de ouro	Massa de toxóide tetânico de <i>Clostridium tetani</i>

<b>Melanoma</b>	Hepatite B VLP	Peptídeos de Melanoma
<b>Câncer</b>	Nanopartículas de estrutura orgânica de metal	Citomembrana de DCs fundidas e células cancerosas
<b>Fibrose cística</b>	Nanoemulsão	Proteobacteriana externa da proteína da membrana (OMPs)

FONTE: Adaptado de BHARDWAJ, et al, 2020.

**Tabela 3 – NANOCARREADORES DE VACINAS EM ESTUDOS CLÍNICOS DE FASES 1, 2 OU 3.**

<b>VACINAS EM ESTUDOS CLÍNICOS DE FASE 1, 2 OU 3</b>			
<b>DOENÇA DIRECIONADA</b>	<b>NANOCARREADOR</b>	<b>ANTÍGENO EXPLORADO</b>	<b>ESTADO CLÍNICO</b>
<b>Gripe</b>	Lipossomas	Vírus H1N1 Split	Fase I
<b>Malária</b>	Lipossomas	RTS, S	Fase I/II
<b>Tuberculose</b>	Lipossomas	M72, Proteína H1	Fase I
<b>Meningitidis</b>	Lipossomas	Proteína de membrana externa e lipopolissacarídeo desacetilado	Fase I
<b>HIV (terapêutica)</b>	Lipossomas	Coquetel de Peptídeos	Fase I
<b>Melanoma (terapêutica)</b>	Lipossomas	HSP-70	Fase I
<b>Carcinoma gástrico (terapêutica)</b>	Lipossomas	Proteína de choque térmico (HSP)	Fase I
<b>Linfoma de Hodgkin (terapêutica)</b>	Lipossomas	HSP	Fase I
<b>Glioblastoma (terapêutica)</b>	Lipossomas	HSPPC-96	Fase I-II
<b>Câncer de Pulmão (terapêutica)</b>	Lipossomas	BLP25	Fase III
<b>Câncer de mama (terapêutica)</b>	Lipossomas	Proteína dHER2	Fase I
<b>Asma alérgica persistente (terapêutica)</b>	VLP	QbG10	Fase III

FONTE: Adaptado de BHARDWAJ, et al, 2020.

**Tabela 4 – NANOCARREADORES DE VACINAS COMERCIALIZADAS**

<b>NANOVACINAS COMERCIALIZADAS</b>		
<b>NANOVACINA</b>	<b>SISTEMA CARREADOR</b>	<b>AREAS DE USO</b>

<b>Vaxfectin®</b>	Lipossomas	Adjuvante para vacina contra a gripe plasmídeo-DNA H5N1
<b>Cervarix®</b>	Partículas semelhantes a vírus bivalente	Proteção contra duas cepas oncogênicas de HPV
<b>Inflexal®</b>	Vacina contra influenza de subunidade trivalente baseada em virossoma	Retenção da apresentação natural do antígeno
<b>Epaxal®</b>	Vacina do vírus da hepatite A inativada com base em virossomo (vírus inteiro)	Proteção de longa duração, vantajosa no caso de viajantes e excelente tolerância local em comparação com adjuvantes à base de alumínio, compatível com a coadministração de outras vacinas convencionais
<b>Dermavir</b>	Vacina tópica baseada em DNA de plasmídeo contra HIV	Direcionamento específico para células apresentadoras de antígeno T Proteção do DNA da degradação intracelular em desenvolvimento clínico

**FONTE:** Adaptado de CHAKRAVARTY; VORA, 2020.

Mesmo com todos os avanços científicos e os contínuos avanços na saúde pública e nas terapêuticas, muitas doenças infecciosas e pandêmicas continuam a ameaçar a humanidade. Como se pode observar na atual pandemia de COVID-19, o desenvolvimento de vacinas apropriadas para prevenir a propagação repentina de doenças infecciosas será de extrema importância para o avanço da saúde da humanidade. (CAMPOS, et al, 2020) A Organização Mundial de Saúde elencou nove doenças que estão sendo projetadas como causadoras de maior risco futuro para a humanidade e anunciou que a pesquisa e o desenvolvimento devem ser acompanhados intensamente de modo a estarem preparadas para surtos futuros. São elas: febre hemorrágica da Crimeia-Congo, doença do vírus Ebola e doença do vírus de Marburg, febre de Lassa, Síndrome respiratória coronavírus do Oriente Médio (MERS) e síndrome respiratória aguda grave (SARS), doenças Nipah e henipavirais, febre do Vale do Rift, Zika e Doença X. A “doença X” representa o conhecimento de que uma grave epidemia internacional poderia ser causada por um patógeno atualmente é desconhecido, e que poderia levar a doenças humanas. Por isso, os planos de pesquisa e desenvolvimento buscam explicitamente habilitar a preparação de pesquisa e

desenvolvimento transversal, que também é relevante para uma "doença X" desconhecida na medida do possível (KIM, et al, 2021) (UNA-SUS).

A tabela 5 apresenta alguns tipos de vacinas baseadas em nanotecnologia contra doenças virais infecciosas emergentes que estão em fases de estudos clínicos.

**Tabela 5 – NANOVACINAS CONTRA DOENÇAS INFECCIOSAS EMERGENTES.**

<b>VÍRUS ALVO</b>	<b>TIPO DE VACINA</b>	<b>NANOCARREADOR</b>	<b>ANTÍGENO</b>
<b>SARS-CoV-2</b>	Ácido nucleico	Nanopartícula lipídica	mRNA que codifica o SARS-CoV-2 RBD
<b>MERS-CoV</b>	Proteína	Nanopartícula polimérica	MERS-CoV RBD
<b>Vírus ZIKA</b>	Ácido nucleico	Nanopartícula lipídica	mRNA que codifica glicoproteínas de pré-membrana e envelope
<b>Virus Ebola</b>	Proteína	Nanopartícula lipídica	Proteína do pico do vírus ebola.

FONTE: Adaptado de KIM, et al, 2021.

## 5. CONCLUSÃO

Muitos avanços foram feitos na área da imunologia desde o desenvolvimento das primeiras vacinas, porém muito trabalho ainda resta a ser feito, pois com o desenvolvimento de diversas condições de saúde que não podem ser tratadas pelos métodos tradicionais, exigiu-se a exploração de novas áreas em relação a vacinação. As vantagens obtidas pelas propriedades das nanopartículas têm sido imensamente exploradas na formulação de novas vacinas. Diversos estudos clínicos mostraram sua eficácia em aumentar as respostas imunes celular e humoral. Os recentes avanços na área da nanotecnologia oferecem diversas vantagens sobre os métodos tradicionais de tratamentos de infecções. Sua superioridade advém de suas características únicas tais como tamanho pequeno da partícula, biocompatibilidade, biodegradabilidade, flexibilidade de modificação da superfície para atingir a seletividade desejada. Muitos estudos que visam aumentar a resposta imune através do uso de materiais nanotecnológico tem se mostrado promissores na prevenção e controle de doenças. Desta maneira, a nanotecnologia pode ser considerada uma tecnologia de extrema importância, que traz muitas vantagens para o campo do desenvolvimento das vacinas. Embora os produtos existentes atualmente sejam muito importantes no contexto da imunização, os esforços para desenvolver vacinas de melhor qualidade, mais seguras e mais eficientes são muito válidos. Espera-se que um número cada vez maior de nanovacinas sejam aprovadas e cheguem ao mercado. Todavia, os estudos referentes a biossegurança, toxicidade, biodisponibilidade, devem ainda ser otimizados para obter respostas imunes para vacinas baseadas em nanopartículas. Os desafios para reunir informações sobre as propriedades e os riscos dos nanomateriais e a aplicação em escala industrial são esforços válidos, pois irão permitir o desenvolvimento de novas vacinas, de melhor qualidade, mais seguras e mais eficientes.

## 6. REFERÊNCIAS

AKAGI, T. BABA, M. AKASHI, M. Biodegradable nanoparticles as vaccine adjuvants and delivery systems: regulation of immune responses by nanoparticle-based vaccine. **Polymers in Nanomedicine**, v. 247, p. 31-64, 2011. DOI: 10.1007 / 12\_2011\_150

BERTI, L A. PORTO, M. L. **Nanossegurança: Guia de boas práticas em nanotecnologia para a fabricação e laboratórios**. São Paulo. Cengage learning, 2016.

BHARDWAJ. P. et al. Advancements in prophylactic and therapeutic nanovaccines. **Acta Biomaterialia**, v. 108, p. 1-21, 2020. DOI: 10.1016 / j.actbio.2020.03.020

BRUNIERI, C M. Uma visão retrospectiva das principais concepções sobre a origem das doenças transmissíveis até o estabelecimento da teoria microbiana em meados do século XIX. **Revista entreteses**. 6. ed., 2016. Disponível em: <https://www.unifesp.br/reitoria/dci/publicacoes/entreteses/item/2194-contagio-miasmas-e-microrganismos>. Acesso em: 14/07/2021.

CAMPOS, E. et al. How can nanotechnology help to combat COVID-19? Opportunities and urgent need. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 18, p. 125, 2020. DOI: 10.1186/s12951-020-00685-4

CLEMENTE-CASARES, X., et al. Peptide-MHC-based nanovaccines for the treatment of autoimmunity: a "one size fits all" approach? **Journal of Molecular Medicine**, v. 89, p. 733-742, 2011. DOI: 10.1007 / s00109-011-0757-z

COICO, R.; SUNSHINE G.; **Imunologia**. Tradução Eiler Fritsch Toros. - [Reimp.]- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

CRISCUOLO E. et al. Alternative methods of vaccine delivery: an overview of edible and intradermal vaccines. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, p. 1-13, 2019. DOI: 10.1155/2019/8303648

DAMIACO, C. et al. Development of vaccine formulations: past, present, and future. **Drug Delivery and Translational Research**, v.11, n. 2, p. 353–372, 2021. DOI: 10.1007/s13346-021-00924-7

DELANY, I. RAPPUOLI, R. DE GREGORIO, E. Vaccines for the 21st century. **EMBO Molecular Medicine**, v. 6, p.708–720, 2014. DOI: 10.1002 / emmm.201403876

DELVES, P, J. et al. **ROITT - Fundamentos de Imunologia**. 13ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

DINIZ, M.O; FERREIRA, L.C. Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas. **Dossiê Biotecnologia**, v. 24, n. 70, p. 19-30, 2010. DOI: 10.1590/S0103-40142010000300003

DUARTE, A. **Entenda como funciona a produção de uma vacina em 5 passos**. PUC-RS, 2021. Disponível em: <https://www.pucrs.br/blog/entenda-como-funciona-a-producao-de-uma-vacina-em-5-passos/> Acesso em: 22/10/2021

ENDO, M. SUGIYAMA, H. DNA origami nanomachines. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1-14, 2018. DOI: 10.3390 / moléculas23071766

ENDO, T, H; et al – **Vacinas virais perspectivas para o controle de epidemias e pandemias**. Ciências da saúde [livro eletrônico]: desafios, perspectivas e possibilidades – Volume 1 / Organizador Fábio Ferreira de Carvalho Junior. – Guarujá, SP: Científica Digital, 2021.

FEIJÓ, R, B; Safádi, M, A. Imunizações: três séculos de uma história de sucessos e constantes desafios. **Jornal de Pediatria**, v. 82, p. 1-3, 2006. DOI: 10.1590/S0021-75572006000400001

FERNANDES, J. et al. **Vacinas**. Rio de Janeiro, RJ. Editora Fiocruz, 2021

FILHO, L. **A história das vacinas. Hospital do coração**. Disponível em: <https://hospitaldocoracao.com.br/novo/midias-e-artigos/artigos-nomes-da-medicina/a-historia-das-vacinas/> Acesso em: 07/10/2021

FRIES, C.N. et al. Advances in nanomaterial vaccine strategies to address infectious diseases impacting global health. **Nature Nanotechnology**, v. 16, p. 1-14, 2020. DOI: 10.1038/s41565-020-0739-9

HALIFA, S. et al. Nanoparticle-based vaccines against respiratory viroses. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. 22, p. 1-14, 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00022

HAN, J. et al. Polymer-based nanomaterials and applications for vaccines and drugs. **Polymers**, v. 10, n. 31, p. 1-14, 2018. DOI: 10.3390/polym10010031

HOMA, A. et al. Atualização em vacinas, imunizações e inovação tecnológica. **Ciencias e saúde coletiva**. p. 445-458, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/b73nrTDDntFsBPvcRqHPfxR/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 02/11/2021

Instituto Butantan **Imunização, uma descoberta da ciência que vem salvando vidas desde o século XVIII**. São Paulo, 2021. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/imunizacao-uma-descoberta-da-ciencia-que-vem-salvando-vidas-desde-o-seculo-xviii>. Acesso em: 30/02/2021

KARCH, C.P.; BURKHARD, P. Vaccine technologies: from whole organisms to rationally designed protein assemblies. **Biochemical Pharmacology**, v. 120, p. 1-14, 2016. DOI: 10.1016 / j.bcp.2016.05.001

KIM, D. et al. Advances in vaccine delivery systems against viral infectious diseases. **Drug Delivery Translational Research**, p. 1-19, 2021. DOI: 10.1007 / S13346-021-00945-2

LEVINSON, Wa. **Microbiologia e Imunologia médica** [recurso eletrônico]; tradução: Danielle Soares de Oliveira Daian; tradução e revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca. – 13. ed. – Porto Alegre : AMGH, 2016.

MARTA, F.C.A. Nanopartículas lipídicas como sistema para administração de fármacos anticancerígenos. **Monografia**. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2014, p. 30.

MINOR, P. Live attenuated vaccines: Historical successes and current challenges. **Virology**, v.479, p. 379-382, 2015. DOI: 10.1016/j.virol.2015.03.032

MOORE, G. **Nanotecnologia em embalagens**; tradução: Edison Zacarias da Silva. São Paulo. Editora Blucher, 2009.

Organização Mundial da Saúde. **Mortalidade infantil e causas de morte**. WHO. Disponível em:  
[https://www.who.int/gho/child\\_health/mortality/mortality\\_under\\_five\\_text/en/\(2020\)](https://www.who.int/gho/child_health/mortality/mortality_under_five_text/en/(2020)). Acesso em: 02/11/2021

PLAYFAIR, J.H. CHAIN, B.M. **Imunologia Básica: guia ilustrado de conceitos fundamentais**. 9 ed. Barueri, SP. Manole, 2013.

POLLARD, A. e BJIKER, E. M. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. **Nature Reviews Immunology**, v.21, p. 83-100, 2020. DOI: 10.1038/s41577-020-00479-7

PRATA, W.M. Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas carreadoras de proteínas como potenciais adjuvantes para uso em vacinas. **Dissertação de mestrado**. Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.

RHEE, J. H. Current and new approaches for mucosal vaccine delivery. **Mucosal vaccine**, p. 325-356, 2020. DOI: 10.1016 / B978-0-12-811924-2.00019-5

RIBEIRO, H. F. et al. **Imunologia Clínica**. Porto Alegre: SAGAH, 2019.

RÓZ, A. L., et al. **Nanoestruturas: Princípios e aplicações**. – 1ª. ed. – Rio de Janeiro: ELSEVIER, 2015.

SCHATZMAYR, H. Novas perspectivas em vacinas virais. **História, Ciência, Saúde-Manguinhos**, v. 10, p. 655-659, 2003. DOI: 10.1590/S0104-59702003000500010

SERAG, E. EL-ZEFTAWY, M. Environmental aspect and applications of nanotechnology to eliminate COVID-19 epidemiology risk. **Nanotechnology for Environmental Engineering**, v.6, n. 11, p. 1-17, 2021. DOI: 10.1007/s41204-021-00108-1

SEYFOORI, A. et al. Emerging advances of nanotechnology in drug and vaccine delivery against viral associated respiratory infectious diseases (VARID).

**International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 1-31, 2021. DOI: 10.3390 / ijms22136937

SILVA, A. G. *Imunologia aplicada: fundamentos, técnicas laboratoriais e diagnósticos*. 1. ed.- São Paulo. Érica, 2014.

SOUTO, E. et al. Nanopartículas de lipídios sólidos: métodos clássicos de produção laboratorial. **Química Nova**, v. 34, p. 1762-1769, 2011. DOI: 10.1590/S0100-40422011001000009

TAVEIRA, S.F. Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) como carreadores de fármacos para o tratamento tópico do câncer de pele. **Tese de Doutorado**. Faculdade de ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009, p. 142.

TOMA, H. E. **Nanotecnologia molecular - materiais e dispositivos**. 1ª edição digital. São Paulo: Blucher, 2016.

TSAI S., et al. Reversal of autoimmunity by boosting memory-like autoregulatory T cells. **Immunity**, v. 32, n. 4, p. 568-580, 2010. DOI: 10.1016 / j.immuni.2010.03.015

VETTER, V. et al. Understanding modern-day vaccines: what you need to know. **Annals of Medicine**, v. 50, n. 2, p. 110-120, 2018. DOI: 10.1080 / 07853890.2017.1407035

WAGNER-MUÑIZ, D. A. et al. Room temperature stable PspA-based nanovaccine induces protective immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. 325, p. 1-11, 2018. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00325

YADAV, H. K.S. . et al. Nanovaccines formulation and applications – a review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 44. p. 380-387, 2018. DOI: 10.1016/j.jddst.2018.01.015

YENKOIDIOK-DOUTI, L. JEWELL, M.C. Integrating biomaterials and immunology to improve vaccines against infectious diseases. **ACS Biomater science engineer**, v. 6, p. 759-778, 2021. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.9b01255

ZHAO, L. et al. Nanoparticle vaccines. **Vaccine**, v. 32, n. 3, p. 327-337, 2014. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.11.069