



**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**VACINAS PARA VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO, O ESTADO  
DA ARTE**

Trabalho submetido por  
**José Duarte Lopes Salgado**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**novembro de 2021**





**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**VACINAS PARA VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO, O ESTADO  
DA ARTE**

Trabalho submetido por  
**José Duarte Lopes Salgado**  
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutor Nuno Taveira**

**novembro de 2021**



## *Dedicatória*

Dedico este trabalho a todos aqueles que sempre acreditaram em mim e no meu potencial, em especial aos meus pais que sempre me apoiaram em tudo e às minhas irmãs por estarem sempre presentes.



## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Nuno Taveira, por o seu total apoio e disponibilidade ao longo da elaboração da tese, para que o meu trabalho saísse bem e a tempo.

Aos meus colegas de curso por todos estes anos que passaram a meu lado, por todo o apoio que me deram ao longo do curso. Sem dúvida muitos que ficaram amigos e vou levar para a vida.

À cooperativa de ensino superior Egas Moniz, por me ter acolhido tão bem e ter tornado a minha experiência universitária tão boa.

Aos meus amigos de sempre, aos da faculdade e aos mais recentes. Todos eles contribuíram de alguma forma para que este momento chegasse.

Ao meu avô, que apesar de não me ter visto chegar a esta etapa, foi um dos meus exemplos de vida.

À minha avó por todos estes anos a acompanhar-me.

Às minhas irmãs Maria Beatriz e Ana Pilar, por fazerem parte da minha vida e acompanharem sempre com orgulho este meu percurso.

Ao meu Pai por me ter acompanhado em tudo durante toda a vida, me ter proporcionado o curso que tanto queria e por ser um exemplo para mim tanto como profissional como pessoa.

À minha Mãe por todo o apoio incondicional em tudo aquilo que passa pela minha vida. Sem ela nada disto seria possível.



## **Resumo**

**Introdução:** As infecções respiratórias virais causaram quase 2,38 milhões de mortes em 2016, sendo a sexta principal causa de mortalidade em todas as idades e a principal causa de morte entre crianças com menos de 5 anos. O Vírus Sincicial Respiratório (RSV) é um dos principais vírus a causar estas infecções. Atualmente não existe vacina nem tratamento específico para as infecções causadas pelo RSV.

**Objetivos:** Esta revisão sistemática teve como principal objetivo caracterizar e descrever os ensaios clínicos em humanos de vacinas contra o RSV nos últimos 5 anos em adultos e crianças, de modo a perceber o porquê da não existência de uma vacina em uso clínico.

**Materiais e métodos:** Foi efetuada pesquisa na base de dados PubMed, com os termos: ((Respiratory syncycial virus) and (Human vaccines)). Na pesquisa foram colocados filtros ao nível temporal de artigos publicados apenas nos últimos 5 anos (2016 a setembro de 2021) e também a nível do tipo de artigo, sendo apenas selecionados os ensaios clínicos publicados em inglês.

**Resultados:** A pesquisa efetuada no PubMed, permitiu a obtenção de 33 resultados, mas apenas 19 cumpriam todos os critérios de inclusão e foram utilizados. Nestes ensaios clínicos foram utilizadas diversas estratégias para a produção da vacina contra o RSV, entre elas a utilização como imunogénio da proteína de fusão (F) do RSV. Os ensaios clínicos foram maioritariamente de fase 1, destacando-se as vacinas dos estudos de McFarland et al. (2020) e Beran et al. (2018). Verifica-se que apesar de haver eficácia das vacinas na diminuição de infeções mais graves, a prevenção já não é tão fácil de obter.

**Conclusão:** O estudo de Auguste et al. (2017) tem a respetiva vacina a ser testada em mulheres grávidas do terceiro trimestre para avaliar a proteção do bebé nos primeiros meses de vida. Espera-se a continuação e desenvolvimento destas vacinas e outras vacinas.

**Palavras-chave:** Infeções Respiratórias; Vírus Sincicial Respiratório; Vacinas humanas; Vírus respiratórios



## **Abstract**

**Introduction:** Viral respiratory infections occur when a virus infects respiratory mucosal cells. These infections are the sixth leading cause of mortality at all ages, with nearly 2.38 million deaths in 2016, and the leading cause of death among children under 5 years of age. The Respiratory Syncytial Virus (RSV) is one of the main viruses causing the aforementioned infections, and there are few treatments available to prevent and treat the consequential illness.

**Objectives:** This systematic review characterizes and describes the clinical trials in humans of vaccines against the RSV in the last 5 years, both in adults and in children, in order to understand the reason behind the unexistence of a vaccine in clinical use for this virus.

**Materials and methods:** The PubMed database was searched with the terms ((Respiratory syncytial virus) and (Human vaccines)). For this search, a temporal filter was applied, so to only return articles published in the last 5 years (2016 to September 2021), together with an article type filter, with only english clinical trials being considered.

**Results:** The previously described search returned a total of 33 articles, but only 19 met all the inclusion criteria and were used. After an analysis of the relevant articles, several strategies were identified for producing a vaccine for the RSV, including the use of RSV F protein (Fusion). Clinical trials were mostly phase 1, highlighting the vaccines from the studies by McFarland et al. (2020) and Beran et al. (2018). The vaccines are effective in reducing more serious infections, but the effective prevention measures are harder to enforce.

**Conclusion:** The study by Auguste et al. (2017) has the respective vaccine being tested in third trimester pregnant women to assess the baby's protection in the first months of life. Vaccines development is expected to continue, with the goal of significantly reducing infections and contagions.

**Key-words:** Respiratory Infections; Respiratory syncytial virus; Human vaccines; respiratory viruses



<b>Índice</b>	
<b>I. Introdução.....</b>	<b>13</b>
<b>1. Vírus Respiratórios.....</b>	<b>13</b>
<b>2. Vírus Influenza .....</b>	<b>14</b>
<b>3. <math>\beta</math>- Coronavírus .....</b>	<b>15</b>
<b>4. Vírus Sincicial Respiratório.....</b>	<b>17</b>
<b>5. Objetivos.....</b>	<b>21</b>
<b>II. Materiais e Métodos .....</b>	<b>23</b>
<b>1. Fontes de informação .....</b>	<b>23</b>
<b>2. Seleção de estudos.....</b>	<b>23</b>
<b>3. Recolha de informação e síntese.....</b>	<b>23</b>
<b>III. Resultados e Discussão .....</b>	<b>25</b>
<b>1. Seleção dos estudos .....</b>	<b>25</b>
<b>2. Análise descritiva.....</b>	<b>28</b>
<b>2.1. Aspetos metodológicos .....</b>	<b>28</b>
<b>2.2. Descrição dos ensaios clínicos.....</b>	<b>29</b>
<b>IV. Conclusão .....</b>	<b>47</b>
<b>V. Bibliografia.....</b>	<b>49</b>



## **Índice de Figuras**

<b>Figura 1-</b> Percentagem de população totalmente vacinada contra a infeção por SARS-Cov-2/COVID-19, por país. Retirado do site: (“Our World in Data,” n.d.) .....	16
<b>Figura 2-</b> Composição, morfologia e estrutura do RSV.....	19
<b>Figura 3-</b> Diagrama de fluxo do PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) .....	25



## **Índice de Tabelas**

**Tabela 1-** Proteínas do RSV e suas funções. Adaptado de: (Boyoglu-Barnum, Chirkova, & Anderson, 2019) (LJ, 2013) .....17

**Tabela 2-** Caracterização de ensaios clínicos de vacinas contra RSV .....26



## **Lista de Abreviaturas**

**Aa:** Aminoácido

**ADCC\*:** Citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (Antibody-dependent cellular cytotoxicity)

**ARN:** Ácido Ribonucleico

**BLP:** Bactéria Imunoestimuladora

**cDNA:** DNA complementar

**DNA:** Ácido Desoxirribonucleico

**EUA:** Estados Unidos da América

**GAPPD\*:** Plano de Ação Global para Prevenção e Controlo da Pneumonia e Diarreia (Global Action Plan for the Prevention and Control of Pneumonia and Diarrhea)

**GLA:** Glicopiranosil lipído A

**LRI\*:** Infecção Respiratória Inferior (Lower Respiratory Infection)

**mRNA:** RNA mensageiro

**MVA\*:** Vetores de Ancara do Vírus Vaccinia Modificado (Modified Vaccinia Virus Ankara Vectors)

**nAbs:** Anticorpos Neutralizantes Anti-RSV

**OMS:** Organização Mundial de Saúde

**PCA\*:** Anticorpos Competitivos do Palivizumab (Palivizumab Competitive Antibodies)

**RSV\*:** Vírus Sincicial Respiratório (Respiratory Syncytial Virus)

**SE\*:** Emulsão Estável óleo-em-água (Stable oil-in-water Emulsion)

**SH\*:** Gene Hidrofóbico Pequeno (Small Hydrophobic Gene)

**SHE\*:** Ectodomínio da pequena glicoproteína hidrofóbica (Small Hydrophobic Glycoprotein Ectodomain)

**Tdap\*:** Vacina Combinada de Toxoide Tetânico-Toxoide Diftérico-Pertússis Acelular (Combined Tetanus Toxoid-Diphtheria Toxoid-Acellular Pertussis Vaccine)

**TLR4\*:** Agonista do Recetor Toll-like 4 (Toll Like Receptor 4)

**UNICEF\*:** Fundo Internacional de Emergência das Nações Unidas para a Infância (United Nations Children's Fund)

**VLPs\*:** Partículas pseudovirais (Pseudoviral Particles)

\*As siglas destacadas são universalmente reconhecidas em inglês, por esse motivo não se recorreu à respetiva tradução.



## **I. Introdução**

### **1. Vírus Respiratórios**

As infecções respiratórias virais ocorrem quando um vírus infeta as células da mucosa respiratória. Isso pode ocorrer quando as partículas de vírus são inaladas ou entram em contato direto com a superfície da mucosa do nariz ou dos olhos. Os indivíduos infectados libertam o vírus no meio ambiente ao tossir ou espirrar, ou até mesmo durante a respiração. O vírus libertado durante a tosse e espirro está frequentemente presente em grandes gotículas que caem do ar a uma curta distância. Se o vírus cair numa superfície e sobreviver, pode ser transmitido quando alguém toca a superfície infectada e, em seguida, toca o nariz, os olhos ou a boca (Subbarao & Mahanty, 2020).

As infecções do trato respiratório inferior são a principal causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Quase 2,38 milhões de mortes resultaram de infecções do trato respiratório inferior em 2016, tornando-as a sexta principal causa de mortalidade em todas as idades e a principal causa de morte entre crianças com menos de 5 anos (Collaborators, 2018).

Em 2016, causaram 13,1% de todas as mortes em crianças menores de 5 anos e 4,4% de todas as mortes em pessoas de todas as idades. A mortalidade por estas infecções é também alta em idosos. O número de mortes em adultos com 70 anos ou mais aumentou de 746.700 em 2000 para 1.080.958 em 2016 (“Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016,” 2017).

Tradicionalmente, a carga de infecções do trato respiratório inferior varia substancialmente em todo o mundo, afetando desproporcionalmente os jovens e os pobres. Pessoas com maior risco de contrair ou morrer de infecções respiratórias geralmente vêm de famílias com acesso inconsistente ou nutrição desadequada, falta de vacinas e saneamento básico, ou com condições imunocomprometedoras (“One is Too Many: Ending child deaths from pneumonia and diarrhoea - UNICEF DATA,” n.d.).

Embora tenha havido uma diminuição substancial na mortalidade por infecção respiratória inferior desde 1990, a maioria das mortes podem ser evitadas e requerem aumento do investimento global em intervenções de prevenção e tratamento (“Global,

regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016,” 2017).

Várias iniciativas globais foram desenvolvidas para combater infecções respiratórias e outras doenças comuns, como o Plano de Ação Global para Prevenção e Controlo da Pneumonia e Diarreia (GAPPD), Every Breath Counts e a Stop Pneumonia Initiative. O GAPPD, criado pela OMS e UNICEF em 2013, é uma iniciativa global com foco na prevenção e tratamento de infecções do trato respiratório inferior. Entre outras iniciativas, o GAPPD promove intervenções para abordar os riscos mais evidentes de contrair e morrer por infecções respiratórias inferiores. O objetivo é reduzir a carga de infecção respiratória inferior em todos os países até 2025, reduzindo a mortalidade para três mortes por 1000 pessoas e a incidência de infecção respiratória inferior para 75% dos níveis específicos de cada país em 2010. Essas metas foram desenvolvidas devido à alta mortalidade infantil e a carga substancial de infecções respiratórias inferiores entre os adultos (“Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development | Department of Economic and Social Affairs,” n.d.).

Os vírus *Influenza* e o Vírus Sincicial Respiratório (RSV) estão entre os principais agentes etiológicos das infecções do trato respiratório inferior. Para além disso, os coronavírus estão a emergir como patógenos respiratórios com potencial epidémico e pandémico.

## 2. Vírus Influenza

Os vírus *Influenza* (ARN de cadeia simples, polaridade negativa e 8 fragmentos) podem ser classificados nos tipos A, B e C, mas apenas A e B são pandémicos ou epidémicos. Os vírus *Influenza* A que causam epidemias e pandemias humanas (por exemplo, gripe espanhola em 1918, gripe asiática em 1957 e gripe de Hong Kong em 1968) são divididos em numerosos subtipos (i.e. H1N1, H1N2 ou H3N2) com base na variação de sequência de hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA), duas glicoproteínas da membrana do vírus *influenza* (Kumar et al., 2018). Os vírus Influenza B que causam epidemias humanas estão divididos em estirpes, mas não em subtipos. Transmitem-se por gotas, aerossol e contacto, têm um período de incubação de dois dias e uma taxa de mortalidade de 0,1% (Abdelrahman, Li, & Wang, 2020).

Os vírus *Influenza* são mais frequentemente associados a episódios não fatais do que a episódios fatais. Em 2016, foi a segunda etiologia mais comum entre os ocorrências de infecções do trato respiratório inferior (39,1 milhões de episódios) e a terceira etiologia

principal das mortes estas infeções no geral (Murdoch & Howie, 2018). Em 2018, entre crianças menores de 5 anos em todo o mundo, havia um número estimado de 109,5 milhões de casos do vírus *influenza*, 10,1 milhões de casos de infeção respiratória inferior (LRI) aguda associada ao vírus *influenza*, 870.000 admissões hospitalares de associadas ao vírus *influenza*, 15.300 mortes hospitalares e até 34.800 mortes totais de LRI aguda associadas ao vírus *influenza* (Wang et al., 2020).

Existem vários fármacos recomendados para o tratamento do vírus da gripe, entre eles o Oseltamivir, Zanamivir, Peramivir e Baloxavir marboxil. Para além disso, existem já várias vacinas aprovadas e em uso clínico, nomeadamente vacina contra a gripe em spray nasal (FluMist Quadrivalent), vacina contra a gripe quadrivalente, vacinação por injetor a jato, vacina contra a gripe sazonal de alta dose (Flunoze), vacina contra a gripe com adjuvante (FLUAD), vacinas contra gripe baseadas em células (Flucelvax Quadrivalent), vacina contra *influenza* recombinante e vacinação intradérmica.

Os estudos sugerem que a vacina da gripe reduz em 50% o risco de infeção pelo vírus da gripe, embora exista uma heterogeneidade considerável por época, configuração e subtipo da população (Valenciano et al., 2016).

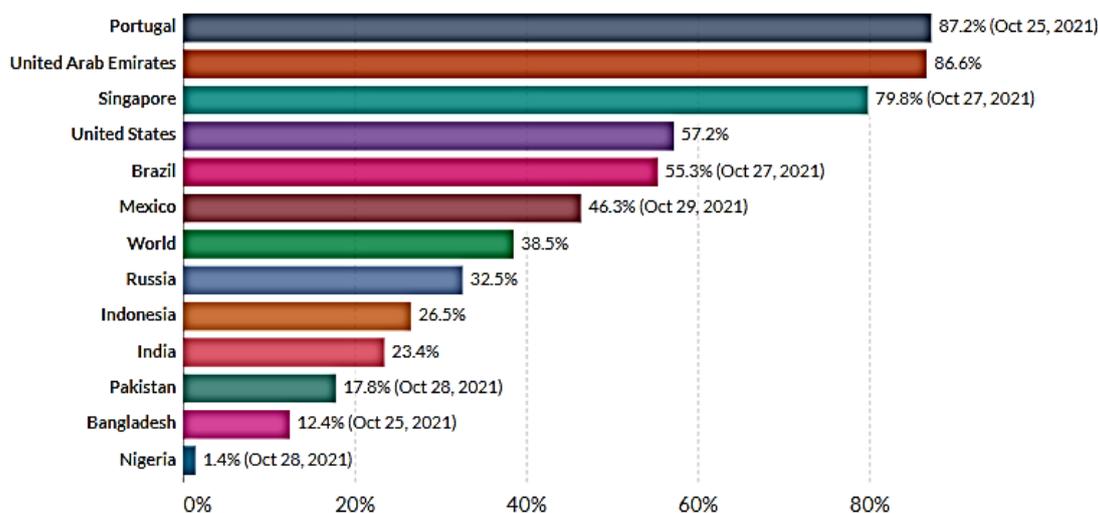
### 3. $\beta$ - Coronavírus

Os  $\beta$ - Coronavírus são vírus de ARN de cadeia simples, de polaridade positiva e não segmentados e são dos vírus mais importantes causadores de infeções respiratórias.

Em 2003, a síndrome respiratória aguda grave (SARS), causada por um coronavírus anteriormente não reconhecido, espalhou-se rapidamente por todo o mundo. Este vírus, denominado de SARS- CoV, com uma letalidade de cerca de 15%, mobilizou esforços internacionais que rapidamente identificaram a causa e o modo de disseminação (Gotas, aerossol e contacto). Esta tem um período de incubação de 2-7 dias (Abdelrahman et al., 2020). Seguiu-se a epidemia de coronavírus da Síndrome Respiratória no Oriente Médio (MERS-CoV) de 2012, também com um modo de transmissão de gotas, aerossol e contacto, um período de incubação de 2 a 14 dias, mas com uma taxa de mortalidade muito preocupante, de cerca de 35% (Abdelrahman et al., 2020). A atual pandemia de SARS-Cov-2, vírus com um período de incubação e modo de transmissão idênticos ao de MERS-CoV, mas com uma taxa de mortalidade bem mais baixa, de 1-3%, no momento da redação desta tese, afetou quase 233 milhões de pessoas e causou quase 5 milhões de mortes em todo o mundo (Abdelrahman et al., 2020) (“COVID-19 Map - Johns Hopkins

Coronavirus Resource Center,” n.d.). Não existe terapêutica aprovada para este tipo de vírus, no entanto, para o Sars-CoV-2 já existem várias vacinas aprovadas e em uso clínico, facto que tem salvado milhões de pessoas por todo o mundo. As vacinas aprovadas em Portugal e pela maioria da Europa incluem a vacina da Janssen, uma suspensão injetável que contém por dose (0,5 ml) de adenovírus tipo 26 que codifica a glicoproteína S (spike\*) do SARS-CoV-2 (Ad26.COV2-S), a vacina Vaxzevria, uma suspensão injetável em que uma dose (0,5 ml) contém: Adenovírus de Chimpanzé que codifica a glicoproteína S (Spike) (ChAdOx1-S) \* do vírus SARS-CoV-2, a vacina Spikevax, vacina de mRNA contra a COVID-19 (com nucleósido modificado) em dispersão injetável. Uma dose (0,5 ml) contém 100 microgramas de RNA mensageiro (mRNA) (encapsulado em nanopartículas lipídicas SM-102) e por fim a vacina Comirnaty (Pfizer), um concentrado para dispersão injetável de vacina de mRNA contra a COVID-19 (com nucleósido modificado). Uma dose (0,3 ml) contém 30 microgramas de vacina de mRNA contra a COVID-19 (incorporados em nanopartículas lipídicas) (“COVID-19 vaccines,” n.d.). A eficácia das vacinas contra a covid-19, doença provocada pelo SARS-CoV-2 é alta e estão já vacinadas totalmente em todo o mundo 3,03 biliões de pessoas. (“COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center,” n.d.)(“COVID-19 vaccines,” n.d.)(Mathieu et al., 2021)(“Coronavirus (COVID-19) Vaccinations - Statistics and Research - Our World in Data,” n.d.)

Quanto a isso, Portugal está muito bem posicionado e tem tido sucesso, dado que é atualmente o país do mundo com maior taxa de vacinação completa, tal como indica a figura seguinte:



**Figura 1-** Percentagem de população totalmente vacinada contra a infeção por SARS-Cov-2/COVID-19, por país, em 31 de Outubro de 2021. Retirado do site: (“Our World in Data,” n.d.)

#### 4. Vírus Sincicial Respiratório

O Vírus Sincicial Respiratório (RSV) foi descoberto há mais de 50 anos e, desde então, foi identificado como a causa mais comum de infecções agudas do trato respiratório em bebês. Mesmo com uma maior compreensão da carga de RSV em idosos, ainda há uma relativa falta de conhecimento sobre a infecção e a transmissão nesse grupo em comparação com os pacientes pediátricos. (A, C, & G, 2018)

É um vírus de ARN de cadeia simples, de polaridade negativa, não fragmentado e com dois sub-grupos, A e B. (Gilman et al., 2019)

Conforme está representado na tabela 1 e figura 2, o vírus RSV é constituído pelas seguintes proteínas e localizações:

**Tabela 1**-Proteínas do RSV e suas funções

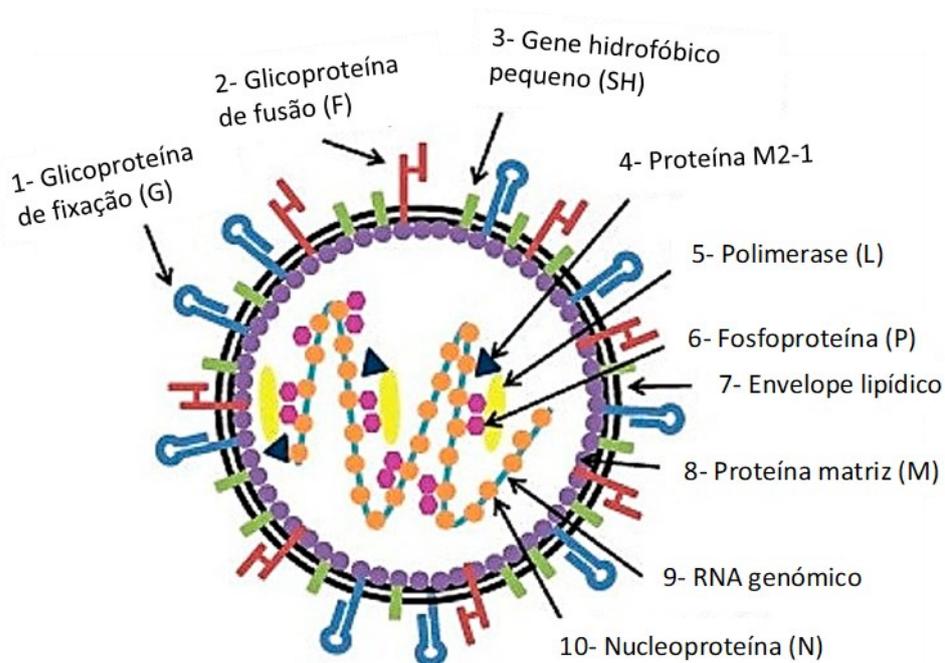
<b>Proteínas</b>	<b>Tamanho</b>	<b>Funções relacionadas com vacinas</b>	<b>Utilidade em Vacina de vírus vivo</b>	<b>Utilidade em Vacina de subunidade</b>
NS1	139 aa	Inibe a produção de interferão tipo 1 para bloquear resposta do hospedeiro	Atenuação	-----
NS2	124 aa	Inibe a produção de interferão tipo 1 para bloquear resposta do hospedeiro	Atenuação	-----
Nucleoproteína (N)	391 aa	Formação de nucleocapsídeo e epítomos de células T	Atenuação ou sensibilidade à temperatura quando mutado	Induzir imunidade de células T
Fosfoproteína (P)	241 aa	Formação de nucleocapsídeo, replicação	Atenuação	Plataforma para VLPs RSV

Proteína da matriz (M)	256 aa	Envelope	Atenuação e sensibilidade à temperatura quando o sinal de início do gene sofreu mutação	Induzir imunidade de células T e plataforma para VLPs de RSV
Hidrofóbico pequeno (SH)	64 aa	Canal iônico	Atenuação	Induzir anticorpos ADCC para diminuir a replicação do vírus
Proteína G	292-319 aa	Fixação e modulação imunológica	Atenuação quando deletada e melhora a segurança e imunogenicidade quando mutada	Induzir anticorpos para inibir a replicação do vírus, bloqueando a ligação aos receptores de superfície celular CX3CR1 e glicosaminoglicanos e / ou ADCC e para bloquear a inflamação induzida por vírus
Proteína F	574 aa	Fixação, entrada, fusão	Atenuação quando mutado ou par de códons não otimizados e imunidade protetora melhorada e estabilidade do vírus quando mutado	Induzir anticorpos para inibir a replicação do vírus, bloqueando a fusão e, possivelmente, por ADCC
Proteína M2-1	194 aa	Fator anti terminação durante a transcrição	Atenuação quando mutado	Induzir imunidade de células T, plataforma para VLPs de RSV
Proteína M2-2	90 aa	Mudar da transcrição para a replicação	Atenuação e imunidade aprimorada quando excluídos	-----

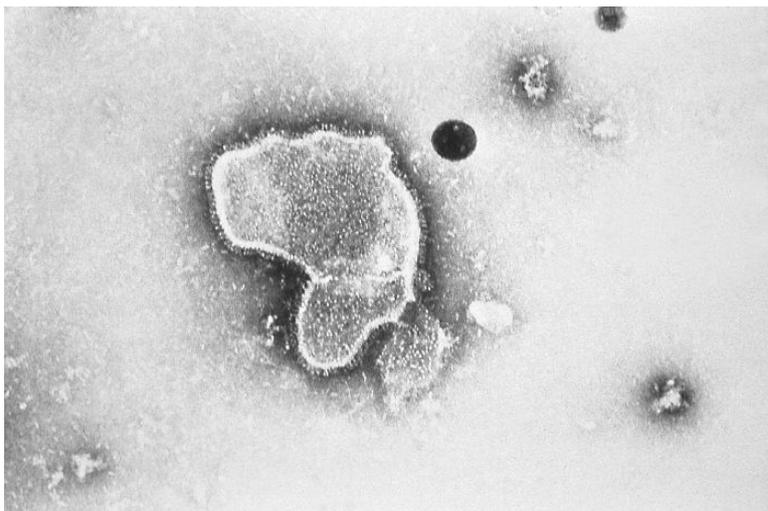
Proteína L	2.165 aa	Polimerase viral	Atenuação quando mutado ou par de codões não otimizados	-----
------------	----------	------------------	---	-------

Adaptado de: (Boyoglu-Barnum et al., 2019) (LJ, 2013)

A)



B)



**Figura 2-** Composição, morfologia e estrutura do RSV. A) representação esquemática da estrutura do RSV com indicação das proteínas que o compõem. Adaptado de: (Bianchini et al., 2020)

B) Fotografia de microscopia eletrônica de transmissão mostrando algumas das características morfológicas do RSV. O vírus tem forma e tamanho variável com um diâmetro entre os 120-300nm. Imagem retirada de: Public Health Image Library do Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, EUA)

A infecção por este vírus tem como principais sintomas os de um resfriado, ou seja, tosse, pingo no nariz, febre e o seu período de incubação varia entre os 4 e os 6 dias. (DK, S, & C, 2017)

A infecção por RSV provoca uma grande carga de doença, tendo por isso sido compreendida uma grande quantidade de informações sobre a replicação, patogênese e transmissão deste vírus. Apesar de haver muita informação sobre RSV, no que toca a estratégias de tratamento já não é assim, existindo pouca quantidade de tratamentos disponíveis para prevenir e tratar a infecção. Isto acontece devido a vários motivos: a deteção e vigilância de RSV não são padronizadas a um nível global, as abordagens de deteção de RSV historicamente não têm sido muito acessíveis, as estratégias de profilaxia são ineficientes e há poucas estratégias bem-sucedidas de antivirais e vacinas contra RSV (Griffiths, Drews, & Marchant, 2017).

Em 2016, o RSV foi a segunda etiologia principal das mortes por infeções do trato respiratório inferior no geral (76.612) e 54% das mortes por infeções respiratórias agudas atribuíveis ao RSV ocorreram em crianças com menos de 5 anos (41.026) (Murdoch & Howie, 2018).

Mais de 90% das mortes por infeção respiratória por RSV em crianças ocorrem em países de rendimento baixo e médio. A infeção respiratória aguda associada ao RSV (RSV-ARI)

também constitui uma carga substancial da doença em adultos com idade  $\geq 65$  anos. Em 2015, houve cerca de 1,5 milhões de episódios de RSV-ARI em adultos mais velhos nos países industrializados, e destes, aproximadamente 14,5% (214.000 episódios) foram internados em hospitais (Nair et al., 2019).

Todos os anos as infecções pelo RSV são altas, apesar de que desde que existe a pandemia provocada pela Covid-19 os números baixaram, muito devido à menor exposição.

## **5. Objetivos**

Esta revisão sistemática teve como principal objetivo caracterizar e descrever os ensaios clínicos em humanos de vacinas contra o RSV nos últimos 5 anos em adultos e crianças, de modo a perceber o porquê da não existência de uma vacina em uso clínico num vírus que tantas pessoas mata anualmente.



## **II. Materiais e Métodos**

### **1. Fontes de informação**

Toda a pesquisa efetuada neste estudo foi feita através da base de dados PubMed. Foram utilizados os seguintes termos para efetuar a pesquisa: ((Respiratory syncycial virus) and (Human vaccines)). Na pesquisa foram colocados filtros ao nível temporal de artigos publicados apenas nos últimos 5 anos (2016 a setembro de 2021) e também filtro a nível do tipo de artigo, sendo apenas selecionados os ensaios clínicos publicados em língua inglesa.

### **2. Seleção de estudos**

Dois revisores independentes (José Salgado e Nuno Taveira) fizeram a análise dos estudos que surgiram como resultados durante todas as fases da pesquisa. Foram introduzidos os artigos, da pesquisa efetuada inicialmente, na plataforma Mendeley® e através desta removidos os duplicados. Os seus títulos e respetivos resumos/abstracts foram lidos de forma a fazer a sua inclusão ou exclusão da revisão. Após esta análise, foi executada uma leitura completa dos artigos que cumpriam todos os critérios de inclusão. Um dos critérios de exclusão foi estudos não escritos e publicados em inglês. Foram apenas usados estudos dos últimos 5 anos e também apenas estudos de ensaios clínicos humanos de vacinas contra RSV.

### **3. Recolha de informação e síntese**

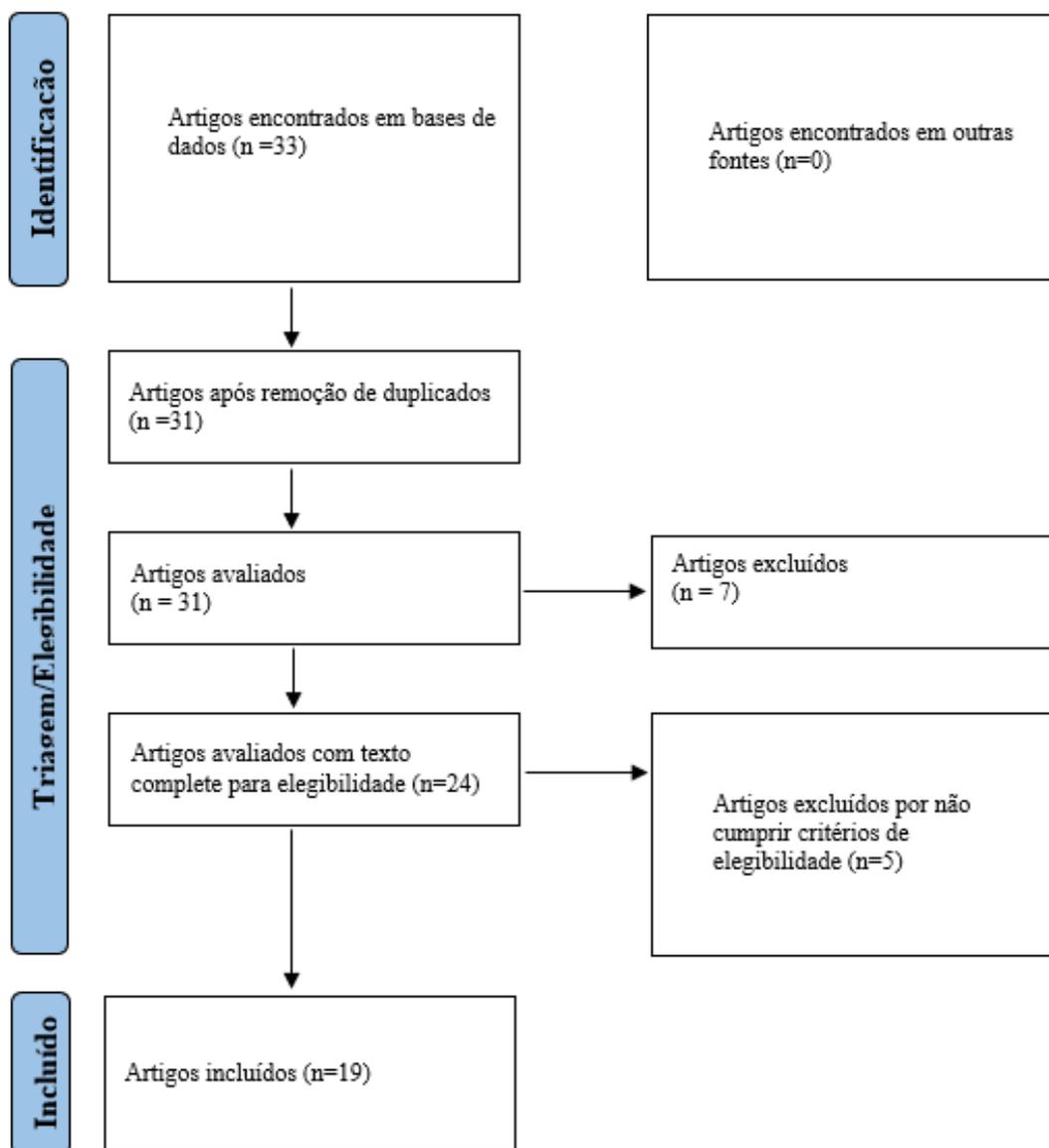
A informação recolhida dos estudos incluídos nesta revisão foi o nome dos autores dos mesmos, ano da sua publicação, o país/cidade onde foi conduzida toda a investigação, o tipo de estudo que foi feito, o número de voluntários que participaram, a fase clínica do estudo, a eficácia das vacinas e os resultados do estudo, utilização ou não de placebo, critério de eficácia e as conclusões. Toda a informação recolhida destes estudos foi então reunida e compilada numa tabela de evidência (Tabela 2).



### III. Resultados e Discussão

#### 1. Seleção dos estudos

Uma pesquisa efetuada no PubMed, permitiu a obtenção de 33 resultados, após remoção dos seus respectivos duplicados ficaram 31. De entre estes estudos encontrados, após a leitura de todos os títulos e resumos, apenas 24 cumpriam a maior parte dos critérios de inclusão e foram elegíveis para leitura integral. Destes, apenas 19 cumpriam todos os critérios de inclusão e foram considerados para inclusão nesta revisão sistemática (Figura 3).



**Figura 3-** Diagrama de fluxo do PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis).

**Tabela 2-** Caracterização de ensaios clínicos de vacinas contra RSV.

Artigo	Tipo de Estudo	País/Cidade	Nº voluntários	Fase Clínica	Placebo	Critério de eficácia	Resultados/Eficácia	Conclusões
(A-Madhi et al, 2020)	Ensaio clínico randomizado	Argentina, Austrália, Chile, Bangladesh, México, Nova Zelândia, Filipinas, África do Sul, Espanha, Reino Unido e Estados Unidos da América (EUA).	4636 pacientes	Fase 3	Sim	Eficácia da Vacina	~40%	Vacina segura e imunogénica, mas critério de sucesso não alcançado
(Verdijk et al, 2020)	Ensaio clínico randomizado	Leiden, Holanda	48 pacientes		Sim	Evidência de eliminação viral	RNA viral em 8,3% dos pacientes	Segura, bem tolerada, mas sem resposta imunitária induzida clara
(McFarland et al, 2020)	Ensaio clínico randomizado	Baltimore, Maryland	32 pacientes		Sim	Eliminação da vacina	95%	Eficaz, a avaliar melhor a estratégia
(Schwarz et al, 2019)	Ensaio clínico randomizado	Bélgica, Estónia, França e Alemanha	400 pacientes	Fase 2	Sim	Aumento dos anticorpos	Títulos de anticorpos aumentaram 3 a 4 vezes	Bem toleradas e induzidas por anticorpos neutralizantes, mas aumento pouco linear
(Cicconi et al, 2020)	Ensaio clínico randomizado	Oxford, Reino Unido	72 pacientes	Fase 1	Sim	Resposta à vacina	60% resposta à vacina	Aumento nas respostas imunológicas em indivíduos previamente expostos ao RSV. Bem tolerada e segura
(Leroux-Roels et al, 2019)	Ensaio clínico randomizado	Gent, Bélgica	288 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumentos de 3 a 5 vezes dos anticorpos	Segurança aceitável e aumento de anticorpos
(Weinberg et al, 2019)	Ensaio clínico randomizado	Colorado, EUA	45 pacientes		Sim	Anticorpos	Aumentos de IgG e IGA	Respostes imunes humorais robustas em adultos mais velhos, mas diminuição da imunogenicidade da vacina em maiores de 70 anos
(Ascough et al, 2019)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos	48 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumento de anticorpos de 1,5 vezes	Induziu resposta persistente
(Green et al, 2019)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos	42 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumento de mais de 4x de anticorpos séricos	Seguro e tolerado em adultos mais velhos. A aprofundar
(Langley et al, 2018)	Ensaio clínico randomizado	Canadá	50 pacientes	Fase 1	Sim	Título médio geométrico	Aumento em 100 vezes em relação ao placebo	Segura e altamente imunogénica
(Buchholz et al, 2018)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos	50 pacientes		Sim	Eficácia de eliminação do vírus	77% eliminaram o vírus da vacina e 59% desenvolveram um aumento $\geq 4$ vezes nos títulos de anticorpos	Bem tolerado e moderadamente imunogénico

Resultados e Discussão

(Beran et al,2018)	Ensaio clínico randomizado	Austrália, Estados Unidos, República Checa, Alemanha e Bélgica	125 pacientes	Fase 2	Sim	Anticorpos	Anticorpos aumentaram 14 vezes, apesar de diminuição dia 30	Aumento das respostas imunes
(Falloon et al, 2017)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos, Canadá, Europa, Chile e África do sul	1894 pacientes	Fase 2b	Sim	Eficácia Vacina	Baixa eficácia da vacina	Imunogénica, mas sem proteção
(Falloon et al, 2017)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos	261 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumento de anticorpos	Respostas imunes substanciais
(August et al, 2017)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos	761 pacientes	Fase 2	Sim	Anticorpos	Aumento de anticorpos entre as 7 e as 10 vezes	Eficaz, mas ainda a ser testada
(Langley et al, 2017)	Ensaio clínico randomizado	Canadá	153 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumento de anticorpos de 3,2-4,9 vezes	Respostas rápidas de anticorpos neutralizantes do RSV em homens jovens saudáveis, com um perfil de eventos adversos aceitável
(Aliprantis et al,2020)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos	179 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumento de anticorpos	Eficaz, aumento de vários anticorpos
(Williams et al, 2020)	Ensaio clínico randomizado	Florida, Estados Unidos	72 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumento dos títulos médios de anticorpos	Segurança aceitável e resoste imune humoral e celular
(Samy et al, 2020)	Ensaio clínico randomizado	Estados Unidos	63 pacientes	Fase 1	Sim	Anticorpos	Aumento de anticorpos 1,8-3,8 vezes	Bem tolerada e com resposta imune

## **2. Análise descritiva**

### **2.1. Aspetos metodológicos**

Nesta revisão sistemática foram incluídos ensaios clínicos randomizados (Tabela 2). Todos os artigos analisados foram publicados nos últimos 5 anos, sendo que 7 destes foram publicados em 2020 (A-Madhi et al, 2020; Verdijk et al,2020; McFarland et al, 2020; Aliprantis et al,2020; Williams et al, 2020; Samy et al, 2020 e Cicconi et al,2019) e outros 5 em 2019 (Schwarz et al, 2019; Leroux-Roels et al, 2019; Weinberg et al, 2019; Ascough et al, 2019;Green et al, 2019).

A maior parte dos ensaios vacinais utilizam como imunogénio a proteína F (Fusão) do RSV. Inserem-se neste caso, os estudos de A-Madhi et al. (2020), Schwarz et al. (2019), Leroux-Roels et al. (2019), Langley et al, (2017), os dois estudos de Falloon et al. (2017), August et al. (2017), Langley et al (2016), Aliprantis et al. (2020) e Samy et al. (2020). Verdijk et al. (2020) teve como objetivo avaliar a segurança, tolerabilidade e imunogenicidade de uma vacina viva atenuada contra o RSV, mas sem a proteína G, enquanto que McFarland et al. (2020) avaliou uma vacina constituída por RSV vivo atenuado com exclusão da proteína M2-2 e com uma região não codificadora hidrofóbica em crianças.

Para além destes, Cicconi et al. (2019), Green et al. (2019) e Williams et al. (2020) procuraram perceber a segurança e imunogenicidade de uma vacina experimental contra RSV baseada no vetor viral de chimpanzé-adenovírus-155 que expressa a proteína de fusão de RSV.

Weinberg et al. (2019) procurou perceber qual a resposta a nível de anticorpos e células B a uma vacina experimental de RSV com adjuvante (MEDI7510).

Ascough et al. (2019) procurou determinar a imunidade local e sistémica contra o vírus sincicial respiratório induzida por uma nova vacina intranasal (vacina de proteína F de RSV ligada a uma partícula semelhante a uma bactéria imunoestimuladora (BLP)).

O estudo de Buchholz et al. (2018) foi um ensaio clínico randomizado de uma vacina contra RSV contendo mutações de sensibilidade à temperatura estabilizada, ou seja, foram utilizados 5 elementos atenuantes independentes para produzir um vírus muito atenuado com uma temperatura de “shut-off” in vitro de 35° para replicação.

Por fim, Beran et al. (2018), procurou determinar a segurança e imunogenicidade de três formulações ( 2 formulações de vacina não adjuvantadas (30 µg e 60 µg) e uma vacina

com adjuvante para controlo de 300 µg nos Estados Unidos e 500 µg no resto do mundo) de uma vacina experimental contra o Vírus Sincicial Respiratório em mulheres não grávidas, utilizando como controlo uma formulação licenciada para adultos de vacina combinada de toxoide tetânico- toxoide diftérico-pertússis acelular (Tdap).

O número de participantes dos ensaios clínicos variou entre 32 e 4636 pacientes e foram todos controlados por placebo.

## 2.2. Descrição dos ensaios clínicos

O estudo de A-Madhi et al. (2020) foi um estudo de fase 3 que procurou avaliar a segurança, imunogenicidade e eficácia de uma vacina constituída por nanopartículas da proteína F do Vírus Sincicial Respiratório (RSV) em mulheres grávidas e os seus bebés. A eficácia foi determinada pela capacidade da vacina de prevenir a infeção em bebés.

Foi um ensaio clínico randomizado, controlado por placebo e realizado na Argentina, Austrália, Chile, Bangladesh, México, Nova Zelândia, Filipinas, África do Sul, Espanha, Reino Unido e Estados Unidos da América (EUA). Participaram no estudo 4636 mulheres grávidas, entre as semanas 28 e 36 de gestação. Estas mulheres deram à luz 4.579 crianças vivas. Foi administrada uma vacina contra RSV em uma única dose intramuscular de nanopartícula de proteína F de RSV ou placebo em uma proporção de 2: 1.

Durante os primeiros 90 dias de vida das crianças, a eficácia da vacina contra a infeção grave do trato respiratório inferior foi de 39,4% (97,52% CI: -1,0%- 63,7%;  $p = 0,0278$ ) e 41,4% (95% CI: 5,3%- 61,2%) no protocolo do ensaio (esta análise consiste em considerar apenas um grupo da amostra inicial, contendo apenas quem completou o tratamento) e análise expandida de intenção de tratar (eITT- análise que pretende preservar a distribuição aleatória e minimizar erros), respetivamente. Houve uma taxa mais baixa (eficácia 58,8%; IC 95% 31,9- 75,0% na análise eITT; não ajustado para multiplicidade) de infeção grave do trato respiratório inferior com hipoxemia grave em bebés vacinados até 90 dias de idade, comparando com a análise de protocolo (eficácia 48,3%).

A pneumonia relatada como um evento adverso sério foi 49,4% menos comum em bebés vacinados (2,6%) do que os que receberam placebo até 364 dias de idade.

A vacinação materna com a vacina de nanopartículas de RSV F foi segura e imunogénica. O critério de sucesso do parâmetro de avaliação primário pré-especificado (limite inferior

de eficácia 97,5%  $\geq$ 30%) não foi alcançado. No entanto, a imunização materna foi associada a risco reduzido de MS-LRTI causado por RSV e infecção grave com hipoxemia grave na primeira infância (Madhi et al., 2020)

O estudo de Verdijk et al. (2020) teve como objetivo avaliar a segurança, tolerabilidade e imunogenicidade de uma vacina viva atenuada contra o RSV, mas sem a proteína G.

O Vírus Sincical Respiratório tem duas glicoproteínas de superfície principais, a proteína de fixação (G) - e a proteína de fusão (F). Ambas as proteínas G e F contêm ligação de anticorpos neutralizantes. Ao contrário da proteína F, a presença da proteína G de superfície não é necessária para a replicação viral.

Usando genética reversa, foi construída uma vacina atenuada contra RSV a partir do qual a sequência de codificação para a proteína de ligação (G) foi excluída do genoma de RSV (RSV $\Delta$ G).

Trata-se da primeira administração em humanos desta vacina, sendo um ensaio clínico randomizado com recurso a placebo. Foi realizado um primeiro ensaio em humanos com o objetivo principal de avaliar a segurança e a eliminação de RSV $\Delta$ G após a administração intranasal.

Adultos saudáveis com idades entre 18 e 50, com títulos séricos neutralizantes do RSV abaixo de 9,6 log<sub>2</sub>, receberam uma dose única de vacina ou placebo (n = 48, proporção 3: 1). Além da segurança e tolerabilidade, a carga viral nasal e as respostas imunes sistêmicas e humorais foram avaliadas em pontos de tempo selecionados até 4 semanas após a imunização.

Os indivíduos foram inoculados com uma dose única intra-nasal de 0,2 mL (0,1 mL por narina) de RSV $\Delta$ G (dose:  $6,5 \pm 0,5 \log_{10}$  CCID 50) ou placebo. Os indivíduos completaram as visitas de acompanhamento em 4, 7, 14 e 28 dias após a inoculação e receberam um telefonema de acompanhamento após seis meses.

Os resultados deste estudo mostraram que uma dose única de  $6,5 \pm 0,5 \log_{10}$  CCID 50 RSV $\Delta$ G é segura e bem tolerada. Os eventos adversos foram usualmente de gravidade leve a moderada, de curta duração e resolvidos sem sequelas. As pontuações dos sintomas do grupo RSV $\Delta$ G foram semelhantes às do grupo placebo e não mostraram aumento substancial nas primeiras duas semanas após a inoculação, confirmando o fenótipo de atenuação total de RSV $\Delta$ G.

No que se refere à carga viral, no grupo RSVΔG, 3 de 36 indivíduos (8,3%) tiveram resultados qCulture quantificáveis de amostras de lavagem nasal em comparação com 3 de 12 (25%) indivíduos no grupo de placebo.

A maior resposta sorológica individual observada foi um aumento de 2 vezes no título de nAbs no dia 7 e no dia 28 após a inoculação com RSVΔG.

Em conclusão, uma dose de  $6,5 \log_{10}$  CCID 50 de RSVΔG foi segura e bem tolerada em adultos saudáveis. Neste primeiro estudo em humanos, a variante RSVΔG modificada geneticamente de RSV vivo atenuado não desapareceu após a inoculação, confirmando a sua atenuação em adultos. No entanto, com a dose testada, não houve marcas claras de indução de uma resposta imunitária em indivíduos adultos seropositivos. A segurança e a imunogenicidade de RSVΔG em uma dose de  $6,5 \pm 0,5 \log_{10}$  CCID 50 devem ser exploradas em crianças seropositivas e, eventualmente, em bebês seronegativos. Além disso, estudos de escalonamento de dose devem ser realizados em adultos para testar se doses mais altas de RSVΔG produziram taxas mais altas de imunogenicidade, sem comprometer o perfil de segurança (Verdijk et al., 2020)

O estudo de McFarland et al. (2020) avaliou uma vacina viva atenuada constituída por RSV sem M2-2 e com uma região não codificadora hidrofóbica em crianças. Trata-se de uma vacina derivada de DNA complementar de RSV do subtipo A, com uma deleção de 234 nucleotídeos e mutações do gene hidrofóbico pequeno (SH) e o SH ORF introduzido para melhorar a estabilidade do cDNA durante o crescimento em bactérias.

Foi um ensaio clínico randomizado com placebo (2: 1 vacina para placebo) conduzido em 10 locais (9 locais da International Maternal Pediatric Adolescent AIDS Clinical Trials [IMPAACT] e o Johns Hopkins Center for Immunization Research [CIR], Baltimore, Maryland, EUA).

Trinta e duas crianças seronegativas para RSV com idade entre 6–24 meses receberam 1 dose intranasal ( $10^5$  unidades) ou placebo e foram observadas quanto à atuação da vacina, reatogenicidade, respostas de anticorpos contra RSV e doença respiratória aguda assistida clinicamente associada a RSV (RSV-MAARI), e respostas de anticorpos anti-RSV durante a época seguinte de RSV.

A eficácia da vacina foi de 95%, ou seja, eliminaram a vacina e / ou tiveram um aumento nos anticorpos séricos contra o RSV (título máximo médio,  $3,5 \log_{10}$  PFUs / mL com ensaio de imunoplaça e Real Time PCR).

Quanto à carga viral, esta foi de  $6,1 \log_{10}$  cópias / mL de vírus, detetados por ensaios de imunoplaça e Real time PCR.

Os anticorpos neutralizantes do RSV e a imunoglobulina G de fusão, ou seja, anticorpos IgG anti- proteína F do RSV aumentaram  $\geq 4$  vezes no soro em 95% e 100% das vacinas, respetivamente, tendo sido muito significativo. Sintomas leves do trato respiratório superior e / ou febre ocorreram em vacinados (76%) e recetores de placebo (18%), o que levanta algumas dúvidas, pois trata-se de um valor elevado nos vacinados. Durante a temporada subsequente de RSV, RSV-MAARI ocorreu em 2 vacinados e 4 recetores de placebo. Três vacinados tiveram aumentos  $\geq 4$  vezes nos títulos séricos de anticorpos neutralizantes do RSV após a temporada do RSV sem RSV-MAARI.

Assim, conclui-se que a vacina gerou fortes anticorpos neutralizantes e respostas IgG da proteína F anti-RSV. (McFarland et al., 2020)

O estudo de Schwarz et al. 2019, foi um ensaio clínico randomizado de fase 2, realizado na Bélgica, Estónia, França e Alemanha em 400 mulheres não grávidas, em que se avaliou a imunogenicidade e segurança de três formulações de uma nova vacina contra o RSV. Esta vacina é composta por 30  $\mu\text{g}$ , 60  $\mu\text{g}$  e, pela primeira vez, 120  $\mu\text{g}$  de proteína PreF, sem adjuvantes.

Quatrocentos participantes foram randomizados (1: 1: 1: 1) para receber uma única dose intramuscular de vacina contendo 30  $\mu\text{g}$ , 60  $\mu\text{g}$  ou 120  $\mu\text{g}$  de proteína de fusão do RSV projetada para manter preferencialmente uma conformação de pré-fusão, uma importante glicoproteína de superfície que medeia a fusão da carga viral com a membrana da célula alvo e permite a entrada do vírus nas células epiteliais respiratórias (vacina RSV-PreF) ou placebo. Todos os participantes eram soropositivos para anticorpos neutralizantes de RSV-A e RSV-B na pré-vacinação e na pré-vacinação, 16,0% -22,0% dos participantes tinham concentrações detetáveis de anticorpo competidor de palivizumab.

Trinta dias após a vacinação, os títulos médios geométricos de anticorpos neutralizante de RSV-A aumentaram 3,75, 4,42 e 4,36 vezes; os títulos médios geométricos de anticorpos neutralizantes de RSV-B aumentaram 2,36, 2,54 e 2,76 vezes; e concentrações de anticorpo competidor de palivizumab (anticorpo monoclonal utilizado na prevenção de infeções respiratórias) aumentaram 11,69-, 14,38- e 14,24 vezes em comparação com os níveis basais nos grupos que receberam 30  $\mu\text{g}$ , 60  $\mu\text{g}$  e 120  $\mu\text{g}$  de RSV-PreF, respetivamente. O anticorpo monoclonal foi utilizado para definir como ponto final de

imunogenicidade primária para calcular o índice de desejabilidade. Os títulos de anticorpos e as concentrações de palivizumab no dia 30 foram significativamente maiores nos indivíduos que receberam a dose de 120 µg em comparação com os que receberam 30 µg. Todas as formulações da vacina RSV-PreF e o placebo tiveram perfis de reatogenicidade semelhantes, ou seja, a vacina levou a efeitos adversos semelhantes a todos os níveis, incluindo placebo. Nenhum evento adverso sério foi observado nos indivíduos vacinados com RSV-PreF.

Este estudo de fase 2 mostrou que 1 dose da vacina experimental RSV-PreF, contendo 30 µg, 60 µg ou 120 µg de proteína RSV-PreF, aumentou as respostas imunes ao RSV em mulheres saudáveis em idade reprodutiva.

Em resumo, este estudo mostrou que as 3 formulações da vacina experimental RSV-PreF contendo até 120 µg de proteína RSV-PreF foram bem toleradas e aumentaram as respostas imunes preexistentes.

O desenvolvimento clínico foi interrompido, pois considerou-se que o aumento nos títulos de anticorpos com o aumento dos níveis de dose não foi linear e sugere que o benefício de aumentar os níveis de dose deste antígeno para mais do que 120 µg pode ser limitado. (Schwarz et al., 2019)

Relativamente ao ensaio clínico de Cicconi et al. (2020), os objetivos foram caracterizar a segurança e imunogenicidade de uma vacina experimental contra RSV baseada no vetor viral de chimpanzé-adenovírus-155 a expressar a proteína de fusão de RSV, nucleocápside e proteínas virais de anti terminação em adultos saudáveis. Tratou-se de um ensaio clínico randomizado de fase 1, realizado em Oxford, Reino Unido, com 72 indivíduos, adultos saudáveis de 18 a 45 anos de idade, controlado por placebo. Houve 7 participantes que receberam a dose baixa de ChAd155-RSV ( $5 \times 10^9$  partículas virais), 31 que receberam a dose alta de ChAd155-RSV ( $5 \times 10^{10}$  partículas virais), 19 que receberam o placebo e 15 que receberam o controle (Bexsero, Vacina contra o meningococo B).

As razões de título médio geométrico dos anticorpos neutralizantes de RSV-A pós e pré-imunização após uma dose elevada foram 2,6 após 1 mês e 2,3 após dois meses, nos participantes que receberam as doses baixas e altas (38). O aumento em anticorpos neutralizantes de RSV-A foi de 1,01 (Dia 0 a Dia 30) em anti-F IgG. No sétimo dia, após a alta dose da vacina, as frequências médias de células B circulantes secretoras de

anticorpos anti-F foram de 133,3 (IgG) e 16,7 (IgA) em  $10^6$  células mononucleares do sangue periférico (PBMCs). A frequência média de células T secretoras de interferon  $\gamma$  específicas de RSV-F após uma dose alta de ChAd155-RSV foi de 108,3 /  $10^6$  PBMCs ao dia 30, sem aumento após a segunda dose.

Todos os participantes apresentaram NAb anti-RSV-A preexistente no início do estudo, assim em adultos previamente expostos naturalmente ao RSV, o ChAd155-RSV gerou aumentos nas respostas imunológicas humorais e celulares específicas sem levantar questões de segurança significativas.

Os resultados deste primeiro estudo em humanos mostram que a imunização com ChAd155-RSV é eficiente a gerar respostas imunes celulares e humorais específicas, é bem tolerada e não apresenta problemas de segurança significativos. Os sintomas observados após a administração de ChAd155-RSV foram geralmente de gravidade leve a moderada, transitórios e consistentes com os relatados anteriormente em estudos semelhantes com vacinas de vetor adenoviral.

Conseqüentemente, a resposta imune humoral observada após a administração de ChAd155-RSV de dose maior é encorajadora. O ChAd155-RSV foi capaz de induzir um aumento de mais de 2 vezes nos títulos de NAb e aproximadamente 60% dos participantes no grupo ChAd155-RSV dose alta preencheram os critérios predefinidos para uma resposta à vacina. (Cicconi et al., 2020)

Leroux-Roels et al. (2019) determinaram a segurança e imunogenicidade de uma vacina de subunidade da glicoproteína F de fusão (uma proteína de superfície que medeia a fusão entre o vírus e as células epiteliais respiratórias alvo e é essencial para a patogênese do RSV). Esta vacina de subunidade de RSV F foi desenvolvida a partir de uma glicoproteína RSV F recombinante projetada na sua conformação pós-fusão. Este ensaio clínico randomizado de fase 1 foi elaborado em Gent, Bélgica, e contou com 288 pacientes. Os participantes foram inscritos (1: 1: 1) em uma forma escalonada de dosagem em três coortes para receber a vacina de subunidade F de RSV contendo 45  $\mu$ g, 90  $\mu$ g e 135  $\mu$ g de glicoproteína F de RSV. Dentro de cada coorte, os participantes foram randomizados (1: 1: 1: 1) para receber duas doses da vacina da subunidade F do RSV com (hidróxido de alumínio ou MF59) ou sem adjuvante, ou placebo, com  $\geq 28$  dias de intervalo. A segurança (até o dia 365 após a dose 2), os anticorpos neutralizantes anti-RSV (NAbs) e

os anticorpos de ligação total do soro à proteína F do RSV (até o dia 181 após a dose 1) foram avaliados.

Todas as formulações foram bem toleradas. Não foram relatados eventos adversos graves relacionados à vacina. Aos 28 dias após a dose 1, os títulos médios geométricos de anticorpos neutralizantes anti-RSV em recetores de vacina em 23 participantes variaram de 893 (IC de 95%: 702-1.136) a 1.602 (IC de 95%: 1.243-2.064). Nenhum efeito de reforço foi observado, mas as respostas imunes foram mantidas acima dos níveis de pré-vacinação por seis meses após a dose 1. As razões entre os títulos de anticorpos de ligação total à proteína F e o título de anticorpos neutralizantes do vírus variaram de 2,79 a 4,12 em 28 dias após a dose 1. O impacto do adjuvante foi limitado.

Este primeiro estudo de fase 1 em humanos mostrou que várias dosagens (45 µg, 90 µg e 135 µg de glicoproteína F de RSV ) e formulações (sem adjuvante ou com adjuvante de alumínio ou MF59) da vacina de subunidade F de RSV experimental tinham uma segurança clinicamente aceitável . Uma única dose de vacina induziu aumentos nos títulos de anticorpos neutralizantes, que estavam dentro da mesma faixa para todas as formulações de vacinas. Foi observado um declínio das respostas imunes em todos os grupos de estudo durante o acompanhamento de 6 meses após a vacinação. (Leroux-Roels et al., 2019)

Weinberg et al. (2019) descreve um ensaio clínico randomizado, realizado no Colorado, EUA, em 45 adultos com o objetivo de caracterizar a resposta a nível de anticorpos e células B de uma vacina experimental de RSV com adjuvante (MEDI7510 contém proteína F RSV solúvel (F) e glicopiranosil lípido A (GLA), um agonista do recetor toll-like 4 (TLR4) numa emulsão estável óleo-em-água (SE).

Tratou-se de sub-estudo de fase 2b, um estudo randomizado (1: 1), duplo-cego e controlado por placebo de MEDI7510. Foi recolhido sangue e secreções nasais nos dias 0, 8, 29, 91 e 180 após -vacinação para medir anticorpos IgG e IgA específicos de F por ELISA, e plasmablastos e células B de memória por fluorospot de duas cores IgA / IgG. Os 27 recetores da vacina e 18 do placebo tinham idade média de 73 anos e incluíam 24 mulheres. Entre os vacinados, 93% tiveram aumentos significativos na IgG plasmática específica para F; 85% tiveram aumento na IgA plasmática; 74% tinham IgG nasal aumentado e 26% IgA nasal; 93% tinham plasmablastos de IgG e 89% de IgA no dia 8 após a imunização; e 82% tinham respostas de células B de memória IgG e 7,4% IgA à

vacina. Os vacinados com <70 anos de idade e as mulheres tiveram as respostas mais elevadas à vacina.

Esta vacina com adjuvante gerou respostas imunes humorais robustas em adultos mais velhos, incluindo anticorpos sistêmicos e mucosos específicos para RSV F e células B de memória. No entanto, a idade  $\geq 70$  anos foi associada à diminuição da imunogenicidade da vacina.

Estudos adicionais são necessários combinando proteínas F de RSV com diferentes sequências de aminoácidos e / ou conformações com glicopiranosil lipídeo A em uma emulsão estável óleo-em-água que mostraram excelentes características adjuvantes. (Weinberg et al., 2019)

O estudo de Ascough et al. (2019) procurou determinar a imunidade local e sistêmica contra o RSV induzida por uma nova vacina intranasal de proteína F de RSV de mucosa ligada a uma partícula semelhante a uma bactéria imunoestimuladora (BLP-bactéria de peptidoglicano). O ensaio clínico randomizado de fase 1, duplo-cego e controlado por placebo contou com a participação de 48 indivíduos saudáveis, com idade entre 18-49 anos, que foram aleatoriamente designados para receber placebo ou SynGEM (dose baixa de 140  $\mu\text{g}$  de proteína F e 2 mg de BLP, e uma dose alta, contendo 350  $\mu\text{g}$  de proteína F e 5 mg de BLP) por via intranasal por administração de reforço inicial, 28 dias após o início. O final primário foi a segurança e tolerabilidade, com objetivos secundários avaliando a imunogenicidade específica do vírus.

Não houve diferenças significativas nos eventos adversos entre os grupos de placebo e vacinados. SynGEM levou a aumentos significativos e duráveis em anticorpos séricos neutralizantes específicos para RSV. No que toca aos níveis de anticorpos séricos, os voluntários que receberam uma dose baixa de SynGEM (140  $\mu\text{g}$  F, 2 mg de BLP) precisaram de um reforço no Dia 28 para atingir as respostas com uma alteração máxima de 2,4 vezes, enquanto os recetores de doses altas (350  $\mu\text{g}$  F, 5 mg de BLP) alcançaram as respostas com uma alteração de 1,5 vezes após a primeira vacinação que permaneceu elevada até 180 dias após a vacinação, independentemente de reforço adicional, tendo assim havido uma melhor resposta com a menor dose. Anticorpos semelhantes ao palivizumab foram induzidos de forma consistente, mas os anticorpos específicos do local  $\emptyset$  da proteína F não foram detetados e as respostas de IgA nasal específicas do vírus foram heterogêneas.

SynGEM é, portanto, a primeira vacina de subunidade intranasal não replicante de RSV a induzir respostas de anticorpos persistentes no plasma de voluntários humanos. A plataforma BLP intranasal usada neste ensaio conduziu a aumentos prolongados no teor de anticorpos específicos do vírus no sangue e na mucosa intranasal de adultos. (Ascough et al., 2019)

Green et al. (2019) realizaram um ensaio clínico randomizado de fase 1, para caracterizar a segurança e imunidade humoral e celular em 42 idosos saudáveis de uma vacina de adenovírus de chimpanzé geneticamente modificado e vetor MVA de RSV. São usadas as proteínas F, N e M2-1 do RSV como antígeno distribuído por adenovírus com defeito de replicação (PanAd3) e vetores de Ancara do vírus vaccinia modificado (MVA).

Foi avaliada a segurança e a imunogenicidade de uma dose única de MVA-RSV administrada por injeção intramuscular (IM) ( $n = 6$ ), duas doses IM de PanAd3-RSV administradas com 4 semanas de intervalo ( $n = 6$ ), 1 dose IM de PanAd3- Prime de RSV e reforço IM de MVA-RSV 8 semanas depois ( $n = 6$ ), pulverização intranasal (IN) de PanAd3-RSV prime e reforço IM de MVA-RSV 8 semanas depois ( $n = 6$ ), ou nenhuma vacina ( $n = 6$ ). As medidas de segurança incluíram todos os eventos adversos observados após uma semana de vacinação e coleta de amostras de sangue periférico para detecção e quantificação de células B de memória IgG e IgA e células T produtoras de  $IFN\gamma$ . As medidas de imunogenicidade incluíram a quantificação das respostas de anticorpos séricos incluindo os títulos de anticorpos neutralizantes de RSV e PanAd3, respostas imunológicas de células B periféricas (frequências de células secretoras de anticorpos IgG e IgA específicas da proteína F e células B de memória por ensaios ELISpot de duas cores *ex vivo* e em cultura, respetivamente) e respostas imunes periféricas de células T específicas de RSV (frequências de células T produtoras de  $IFN\gamma$  por ELISpot *ex vivo*, e frequência de células semelhantes a  $CD4 + / CD8 + / Tfh$  por ICS / Ensaio FACS).

As vacinas PanAd3-RSV e MVA-RSV foram seguras e imunogénicas. Em comparação com os dados de adultos mais jovens que receberam as mesmas vacinas, os idosos não perderam a potência no aumento das respostas imunes específicas do RSV. (Green et al., 2019)

Langley et al. (2018), procurou perceber a imunogenicidade de uma vacina contra RSV baseada numa pequena proteína hidrofóbica à base de lípidos, ectodomínio da pequena

glicoproteína hidrofóbica (SHe) do subgrupo A de RSV, formulado com a plataforma de vacina à base de óleo e lípido DepoVax (DPX-RSV [A]), um adjuvante lipopeptídeo sintético, que é uma mistura lipídica de colesterol e fosfatidilcolina. Tratou-se de um ensaio clínico de fase 1 randomizado, cego para observador, realizado no Canadá com 50 voluntários de 50-64 anos, controlado por placebo.

Duas doses (10 ou 25 µg) de SHe com cada formulação foram comparados ao placebo. Uma dose de reforço foi administrada no dia 56.

O peptídeo SHe (10 ou 25 µg) foi formulado em DPX, um adjuvante lipopeptídeo sintético, que é uma mistura lipídica de colesterol e fosfatidilcolina, e Montanide (adjuvante). A vacina DPX-RSV (A) foi fornecida em 2 frascos. O frasco 1 continha o antígeno e o sistema adjuvante liofilizado e foi armazenado a -20 ° C. Foi descongelado à temperatura ambiente no dia da vacinação e depois misturado com o frasco 2, contendo Montanide. A vacina reconstituída apareceu como uma suspensão transparente.

Não houve indicação de que a vacina era insegura. Dor leve, sonolência e dores musculares foram os eventos adversos mais comuns, e a frequência destes não aumentou após a dose 2. Respostas imunológicas robustas específicas de anticorpos neutralizantes IgG anti-SHe foram obtidas nos grupos que receberam 10 µg e 25 µg de DPX-RSV (A) (título médio geométrico, aproximadamente 10 vezes e 100 vezes maior do que o do placebo nos dias 56 e 236, respectivamente), e as respostas foram mantidas no grupo que recebeu 25-µg de DPX-RSV (A) no dia 421. As respostas às vacinas contra RSV (A) - Alum foram muito baixas.

Em conclusão, um novo antígeno da proteína SH (ectodomínio de RSV) do RSV, formulado em uma plataforma de vacina baseada em óleo e lípidos, foi imunogênico, com respostas sustentadas de anticorpos específicos para o antígeno e um perfil de segurança aceitável. (Langley et al., 2018)

Buchholz et al. (2018) realizou um ensaio clínico randomizado nos Estados Unidos com 50 indivíduos de uma vacina contra RSV contendo mutações de sensibilidade à temperatura estabilizada (5 elementos atenuantes independentes para produzir um vírus muito atenuado com uma temperatura de “shut-off” in vitro de 35° para replicação, utilizando substituições de aminoácidos na nucleoproteína (N), proteínas de fusão (F) e polimerase (L)).

Crianças de 6 a 24 meses seronegativas para RSV receberam uma dose intranasal de  $10^{5.3}$  unidades formadoras de placa (PFU) de RSVcps2 (RSV passagem a frio / estabilizado 2) (n = 34) ou placebo (n = 16) Foram avaliados os títulos de anticorpos neutralizantes do RSV no soro dos participantes antes e 56 dias após a vacinação, a infetividade do vírus vacinal (definida como libertação do vírus na lavagem nasal e / ou um aumento  $\geq 4$  vezes nos anticorpos séricos), a reatogenicidade e a estabilidade genética. Durante a temporada de transmissão do RSV seguinte, os participantes foram monitorizados para doenças respiratórias, com títulos de anticorpos séricos medidos antes e depois da temporada.

Um total de 85% dos vacinados foram infetados com o vírus vacinal RSVcps2 (título médio,  $0,5 \log_{10}$  PFU / mL por cultura e  $2,9 \log_{10}$  cópias / mL por PCR); 77% eliminaram o vírus vacinal e 59% aumentaram  $\geq 4$  vezes os títulos de anticorpos neutralizantes do RSV no soro. Trato respiratório e / ou doença febril ocorreram na mesma frequência (50%) nos grupos da vacina e do placebo. A reversão da atenuação do vírus vacinal não foi detetada em nenhum dos 2 locais de mutação. Em conclusão, a vacina RSVcps2 foi bem tolerada e moderadamente imunogénica e apresentou estabilidade genética em crianças seronegativas para RSV de 6–24 meses de idade. (Buchholz et al., 2018)

Beran et al. (2018), procuraram determinar a segurança e imunogenicidade de 3 formulações ( 2 formulações de vacina não adjuvantedas (30  $\mu\text{g}$  e 60  $\mu\text{g}$ ) e uma vacina com adjuvante para controlo de 300  $\mu\text{g}$  nos Estados Unidos e 500  $\mu\text{g}$  no resto do mundo ) de uma vacina experimental contra o RSV em mulheres não grávidas de 18 a 45 anos de idade em 2 ensaios clínicos randomizados de fase 2, realizado em 125 voluntários na Austrália, Estados Unidos, República Checa, Alemanha e Bélgica (RSV F-020 e RSV F-024).

RSV F-020 foi um ensaio clínico randomizado que avaliou a reatogenicidade e imunogenicidade de 3 formulações diferentes de RSV-PreF e com base nos dados de imunogenicidade e reatogenicidade do dia 30 deste estudo, a formulação de RSV-PreF não adjuvante de 60  $\mu\text{g}$  foi selecionada para um ensaio de fase 2 adicional (RSV F-024). Ambos os estudos usaram uma formulação licenciada para adultos de Tdap como controlo. O ensaio RSV F-020 avaliou a imunogenicidade e segurança: os participantes foram randomizados (1: 1: 1: 1) para receber 1 dose de vacina de proteína F de pré-fusão

RSV (PreF) contendo 30 µg ou 60 µg de RSV-PreF sem adjuvante, 60 µg de RSV-PreF ou Tdap com adjuvante de alumínio. O ensaio RSV F-024 avaliou a segurança: os participantes foram randomizados 1: 1 para receber 1 dose de 60 µg de RSV-PreF ou Tdap sem adjuvante.

Ambos os estudos mostraram perfis de reatogenicidade semelhantes para RSV-PreF e Tdap. Nenhum evento adverso sério foi associado às vacinas. No RSV F-020, as razões geométricas médias dos níveis de anticorpos neutralizantes do RSV-A no dia 30 em relação à pré-vacinação foram de 3,1–3,9 em recetores de RSV-PreF e de 0,9 nos recetores de controlo. As concentrações de anticorpos competidores de palivizumab aumentaram > 14 vezes em recetores de RSV-PreF no dia 30. Os títulos de anticorpos de RSV diminuíram após o dia 30, mas permaneceram bem acima da linha de base até o dia 90. Todas as formulações de RSV-PreF aumentaram as respostas imunes em mulheres de 18 a 45 anos com imunogenicidade comparável. O perfil de segurança RSV-PreF foi semelhante ao da vacina Tdap. (Beran et al., 2018)

Falloon et al. (2017) descrevem um ensaio clínico randomizado de fase 1, controlado por placebo e realizado em 261 voluntários nos Estados Unidos com o objetivo de determinar a melhor dose de uma vacina de proteína F de RSV com adjuvante com base em respostas imunológicas humorais e celulares.

Este foi o segundo estudo de fase 1 de uma vacina contra o RSV contendo proteína de fusão (sF) adjuvada com glucopiranosil lipídeo A (GLA) em emulsão estável a 2% à base de esqualeno (GLA-SE). Neste estudo duplo-cego randomizado, 261 indivíduos com idade ≥60 anos receberam uma vacina inativada contra influenza (IIV), uma vacina contendo 120 µg sF com doses crescentes de GLA (1, 2,5 ou 5 µg) em SE, ou uma vacina contendo 80 µg sF com 2,5 µg GLA em SE. Os indivíduos que receberam 120 µg sF com 2,5 ou 5 µg GLA também foram randomizados para receber IIV ou placebo. A imunidade ao RSV foi avaliada pela deteção de microneutralização, anticorpos IgG anti-F e IgGs competitivos do anticorpo palivizumab. Doses mais altas de adjuvante aumentaram o desconforto no local da injeção, mas, na dose mais alta, a reatogenicidade foi semelhante à das pessoas que receberam a vacina IIV. Respostas imunes humorais e celulares significativas foram observadas. Os indivíduos que receberam a vacina contra RSV desenvolveram uma resposta imune anti-F IgG que não foi observada em recetores de placebo e em recetores da vacina contra RSV, os níveis de anti-F IgG no dia 29 foram

1.015,46 (95% CI, 955,73–1078,94) unidades / mL em indivíduos com idade de 60–75 anos e 905,05 (95% CI, 778,03–1052,82) unidades / mL em indivíduos com idade > 75 anos. A formulação de 120 µg sF mais 5,0 µg GLA resultou nas respostas mais altas em todos os indivíduos e em indivíduos mais velhos. Esses resultados confirmam observações anteriores de tolerabilidade, segurança e imunogenicidade da vacina e foram usados para selecionar a formulação de 120 µg sF mais 5,0 µg GLA para avaliação de fase 2. (Falloon, Talbot, et al., 2017)

O estudo de Falloon et al. (2017) procurou caracterizar a eficácia de uma vacina com base na proteína F pós-fusão (120 µg) com adjuvante lipídico glucopiranosil (5 µg) em emulsão estável a 2%. Este ensaio clínico randomizado de fase 2b contou com 1894 pacientes, controlado por placebo, tendo sido realizado nos Estados Unidos, Canadá, Europa, Chile e África do sul.

Indivíduos com idade  $\geq 60$  anos foram designados aleatoriamente em uma proporção de 1: 1 para receber vacina ou placebo (todos receberam vacina inativada contra influenza). Os indivíduos doentes registaram os sintomas e forneceram amostras de sangue e esfregaço nasal.

Na população que seguiu o protocolo (n = 1894), a incidência de internamento associado a RSV ocorrendo  $\geq 14$  dias após a administração foi de 1,7% e 1,6% nos grupos de vacina e placebo, respetivamente, para uma eficácia da vacina (VE) de -7,1 % (Intervalo de confiança de 90% [IC], -106,9% -44,3%). A eficácia não foi observada em análises secundárias que incluíram a resposta serológica a antígenos não vacinais do RSV (VE, 8,9%; 90% CI, -28,5% -35,4%) ou sintomas combinados com resposta serológica (VE, 10,0%; 90% CI, -45,4% - 44,4%). No dia 29, 92,9% dos vacinados apresentaram uma resposta serológica de IgG anti-F. No geral, 48,5% e 30,9% dos recetores da vacina contra RSV relataram sintomas locais e sistémicos, respetivamente.

O fracasso desta vacina tem amplas implicações para o campo. Esta vacina continha um potente agonista do recetor Toll-like 4 (glucopiranosil lipídico) numa emulsão estável óleo-em-água à base de esqualeno e uma grande quantidade de antígeno (perto do máximo que poderia ser incluído numa vacina), o que sugere que será difícil criar uma vacina pós-fusão melhorada à base de proteína F. A inclusão de uma proteína F na configuração de pré-fusão pode melhorar a imunogenicidade e a eficácia.

(Falloon, Yu, et al., 2017)

O estudo de Auguste et al. (2017) foi um ensaio clínico randomizado de fase 2, controlado com placebo realizado nos Estados Unidos em 761 voluntários, onde se procurou determinar a dosagem de formulações de uma vacina de nanopartículas da proteína F do RSV com adjuvante de fosfato de alumínio em mulheres saudáveis em idade reprodutiva. Placebo, ou vacina com 60 µg ou 120 µg de proteína F de RSV e 0,2, 0,4 ou 0,8 mg de fosfato de alumínio, foram administrados por via intramuscular nos dias 0 e 28 para mulheres saudáveis de 18 a 35 anos. A imunogenicidade foi avaliada nos dias 0 a 91 com base nos anticorpos IgG anti-F e IgGs competitivos do palivizumab (PCA) determinados por ELISA, e anticorpos neutralizantes de RSV A e B por ensaio de microneutralização (MN). Os efeitos adversos solicitados foram recolhidos até o dia 7 e os efeitos adversos não solicitados até o dia 91.

Todas as formulações foram bem toleradas, sem efeitos adversos graves associados ao tratamento. As respostas IgG anti-F e PCA foram correlacionadas e aumentaram após ambas as doses, enquanto a resposta neutralizante aumentou significativamente apenas após a primeira dose, tendo estabilizado depois disso. As respostas de anticorpos mais robustas foram obtidas com uma dose de 120 µg de proteína F RSV e 0,4 mg de fosfato de alumínio, mas a persistência por 91 dias foi modestamente (~25%) superior após duas doses de 60 µg de proteína F RSV e 0,8 mg de fosfato de alumínio. A análise de Western blot, com soros sequenciais avaliou respostas de anticorpos a proteínas não-F RSV. Aproximadamente 10% dos indivíduos em ambos os grupos ativo e placebo tinham evidência de infecção recente por RSV no Dia 0. Após a imunização demonstrou que as infecções por RSV em vacinados ativos foram reduzidas em 52% no geral.

Neste estudo, as diferentes formulações de vacina de nanopartículas da proteína F de RSV foram bem toleradas e imunogênicas. A combinação ideal de conveniência e resposta rápida ocorreu com 120 µg RSV F e 0,4 mg de fosfato de alumínio, que alcançou o pico de resposta imune em 14 dias e persistência suficiente ao longo de 91 dias.

A injeção única de 120 µg de proteína F de RSV com 0,4 mg de fosfato de alumínio foi bem tolerada, induziu anticorpos IgG anti-F robustos, altas respostas de PCA e títulos elevados de anticorpos neutralizantes e deve melhorar a eficácia quando administrada num regime de 2 doses. Esta vacina está agora a ser testada em mulheres grávidas do terceiro trimestre para avaliar a proteção do bebé nos primeiros meses de vida contra a doença clínica durante a época de RSV (objetivo primário) e para avaliar a carga da doença e infecção por RSV em mães (objetivo exploratório). (August et al., 2017)

Langley et al (2017), realizou um ensaio clínico de fase 1 randomizado, controlado e cego para caracterizar a segurança e imunogenicidade de uma vacina de RSV com ou sem adjuvante de óxido de alumínio, no Canadá em 153 pacientes. Esta vacina é constituída por proteína F recombinante purificada desenhada para manter preferencialmente a conformação de pré-fusão (RSV-PreF). 128 homens saudáveis de 18 a 44 anos de idade foram randomizados para uma dose de RSV-PreF contendo 10, 30 ou 60 µg de antigénio RSV-PreF, com ou sem adjuvante de óxido de alumínio ou controlo, e seguido por um ano para aferir as características de segurança e imunogenicidade.

Dor no local da injeção foi o efeito adverso mais comum, relatado por até 81,3% dos participantes. As respostas de anticorpos neutralizantes de RSV mais altas foram obtidas nos grupos que receberam 30 µg de RSV-PreF / alum, 60 µg de RSV-PreF / alum e 60 µg de RSV-PreF / não adjuvante. As respostas foram evidentes nos dias 7 e 30 após a vacinação. Os participantes tinham títulos de anticorpos neutralizantes de RSV-A  $\geq 1:512$  e > 70% tinham títulos de 1:1024, com títulos aumentando em 3,2–4,9 vezes em relação ao início. As respostas neutralizantes permaneceram altas no dia 60, mas diminuíram nos dias 180 e 360.

Em resumo, um estudo de fase 1 de uma vacina pré-fusão contra o RSV, destinada à vacinação materna para proteger bebês, demonstrou uma reatogenicidade moderada. Uma dose de todas as formulações produziu uma resposta imune rápida. (Langley et al., 2017)

O estudo de Aliprantis et al. (2020) procurou avaliar a segurança e imunogenicidade de uma vacina de proteína F de pré-fusão de RSV baseada em mRNA em adultos jovens e idosos saudáveis. Trata-se de um ensaio clínico randomizado de fase 1 realizado nos Estados Unidos em 179 voluntários. Neste estudo randomizado, parcialmente duplo-cego, controlado por placebo, de escalonamento de dose de fase 1, foi avaliada a segurança, tolerabilidade e imunogenicidade de uma vacina investigacional de ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) que codifica a proteína de fusão RSV (F) estabilizada na conformação de pré-fusão. O estudo foi realizado em adultos jovens saudáveis (idades  $\geq 18$  e  $\leq 49$  anos) e idosos saudáveis (idades  $\geq 60$  e  $\leq 79$  anos). Os participantes receberam mRNA-1777 (V171) ou placebo como dose única intramuscular. Para cada nível de dose, três participantes sentinela receberam mRNA-1777 de rótulo aberto (V171). Setenta e

dois adultos mais jovens foram randomizados e administrados com 25, 100 ou 200 µg mRNA-1777 (V171) ou placebo, e 107 adultos mais velhos foram randomizados e administrados com 25, 100, 200 ou 300 µg mRNA-1777 (V171) ou placebo. Os objetivos primários eram segurança e tolerabilidade e os objetivos secundários incluíam imunogenicidade humoral e mediada por células.

Todos os níveis de dose de mRNA-1777 (V171) foram geralmente bem tolerados e nenhum evento adverso sério associado à vacina foi relatado. A imunização com mRNA-1777 (V171) desencadeou uma resposta imune humoral medida por aumentos nos títulos de anticorpos neutralizantes de RSV, títulos de anticorpos séricos para proteína F de pré-fusão de RSV, e títulos de anticorpos competidores D25 para proteína F de pré-fusão de RSV. (Aliprantis et al., 2020)

O estudo de Williams et al. (2020) foi um ensaio clínico de Fase 1 de Segurança e Imunogenicidade de uma Vacina de RSV com um vetor de Adenovírus 26 que codifica uma proteína F em estrutura de Pré-fusão (Ad26.RSV.preF) em adultos com  $\geq 60$  anos. Foi realizado nos Estados Unidos em 72 pacientes.

Setenta e dois participantes receberam 1 ou 2 injeções intramusculares de dose baixa ( $5 \times 10^{10}$  partículas de vetor) ou alta dose ( $1 \times 10^{11}$  partículas de vetor) da vacina Ad26.RSV.preF ou placebo, com aproximadamente 12 meses entre doses e 2 anos de acompanhamento para aferir resultados de segurança e imunogenicidade.

Efeitos adversos foram relatados por 44% dos recetores da vacina e foram transitórios e de intensidade leve ou moderada. Nenhum evento adverso sério foi associado à vacinação. Após a primeira vacinação, os títulos médios geométricos de anticorpos neutralizantes do RSV-A2 aumentaram desde o início (432 para vacina em dose baixa e 512 para vacina em dose alta) até o dia 29 (1031 para dose baixa e 1617 para dose alta). Os títulos médios geométricos de anticorpos específicos pré-F e as frequências medianas de células T secretoras de interferon  $\gamma$  específicas de F também aumentaram substancialmente desde a linha de base. Essas respostas imunes foram mantidas acima dos níveis basais 2 anos após a imunização.

Em conclusão, a vacina Ad26.RSV.preF teve um perfil de segurança aceitável e induziu respostas imunes humorais e celulares sustentadas após uma única imunização em adultos mais velhos. A resposta à vacina manteve-se por mais de 2 anos. Este estudo encoraja o desenvolvimento de vacinas baseadas em adenovírus que codificam a forma pré-F da

proteína F do RSV para a prevenção de doenças respiratórias grave associadas ao RSV em adultos mais velhos. (K et al., 2020)

O estudo de Samy et al. (2020) foi um ensaio clínico randomizado de fase I realizado nos Estados Unidos em 63 pacientes, onde se procurou determinar a segurança e imunogenicidade de uma nova vacina MVA-BN-RSV que codifica as proteínas de superfície F e G de RSV (subtipos A, B), bem como as proteínas internas N e M2 na estrutura do vetor viral MVA-BN. Este foi o primeiro estudo em humanos para investigar a segurança, reatogenicidade e imunogenicidade desta nova vacina. Sessenta e três participantes foram alocados a 3 grupos: adultos (18-49 anos) que receberam uma dose baixa da vacina ( $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>) adultos (18-49 anos) que receberam uma dose elevada da vacina ( $1 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>) e adultos com 50–65 anos que receberam a dose elevada da vacina. Os participantes em cada grupo foram randomizados em uma proporção de 6: 1 para receber 2 doses de MVA-BN-RSV ou placebo com 4 semanas de intervalo e foram monitorizados durante 30 semanas. Todos os participantes completaram o estudo, recebendo ambas as doses. Nenhum efeito adverso sério ou efeitos adversos de especial interesse foi relatado. Os mais comuns foram dor no local da injeção (56% nos grupos de dose alta combinada, 17% no grupo de dose baixa). MVA-BN-RSV induziu respostas robustas de células T contra todas as 5 proteínas vacinais com aumentos variando de 1,8 a 3,8 vezes. Respostas T mais elevadas e mais amplas foram observadas nos grupos que receberam a dose mais elevada (83% de respondentes a pelo menos 3 pools de peptídeos nos grupos de dose alta combinados em comparação com 63% no grupo de dose baixa). Respostas humorais moderadas, mas consistentes, foram observadas contra os subtipos A e B de RSV (aumentos de até aproximadamente 2 vezes nos grupos de alta dose em relação ao início). Não foram observadas diferenças entre os grupos de adultos e idosos na segurança, reatogenicidade ou imunogenicidade. O estudo demonstrou que a vacina MVA-BN-RSV é bem tolerada e induz respostas imunes celulares e humorais moderadas. (Samy et al., 2020)



#### IV. Conclusão

Não existindo vacina nenhuma ainda aprovada, verifica-se que são utilizadas diversas estratégias para a produção da mesma, sendo a mais comum a utilização da proteína F do RSV como imunogénio, a utilização do vetor viral de adenovírus-155 de chimpanzé para expressar a proteína de fusão de RSV, e a utilização de MEDI7510 e óxido e fosfato de alumínio como adjuvantes. O método mais utilizado é a administração de uma dose com 30 µg, 60 µg ou 120 µg de proteína de fusão do RSV.

A maioria das vacinas avaliadas estavam na fase 1 do estudo, pelo que neste momento, as que continuam em estudo, estarão em fase 2.

Praticamente todos os ensaios relataram vacinas com efeitos adversos leves e por isso foram consideradas bem toleradas.

A maioria das vacinas produz uma resposta imunitária humoral e/ou celular contra o vírus, mas que muitas vezes se relata como insuficiente para imunização contra RSV.

O estudo de McFarland et al. (2020) que avaliou uma vacina viva atenuada constituída por RSV sem M2-2 e com uma região não codificadora hidrofóbica em crianças foi das que apresentou melhores resultados, sendo que gerou fortes anticorpos neutralizantes e respostas IgG da proteína F anti-RSV.

O estudo de Auguste et al. (2017) tem a respetiva vacina a ser testada em mulheres grávidas do terceiro trimestre para avaliar a proteção do bebé nos primeiros meses de vida contra a doença clínica durante a época de RSV (objetivo primário) e para avaliar a carga da doença e infeção por RSV em mães (objetivo exploratório).

A vacina do estudo de Beran et al. (2018), de 3 formulações (2 formulações de vacina não adjuvantadas (30 µg e 60 µg) e uma vacina com adjuvante para controlo de 300 µg nos Estados Unidos e 500 µg no resto do mundo parece ser das que está mais perto de chegar ao mercado, visto ter atingido bons resultados num estudo já de fase 2.

Na maioria das vacinas verifica-se também que apesar de haver eficácia das vacinas na diminuição de infeções mais graves, a prevenção da infeção pelo RSV já é mais limitada, sendo a produção de anticorpos muitas vezes insuficiente.



## V. Bibliografia

- A, P., C, S., & G, A. (2018). Respiratory syncytial virus. *Minerva Pediatrica*, 70(6), 553–565. <https://doi.org/10.23736/S0026-4946.18.05312-4>
- Abdelrahman, Z., Li, M., & Wang, X. (2020). Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.552909>
- Aliprantis, A. O., Shaw, C. A., Griffin, P., Farinola, N., Railkar, R. A., Cao, X., ... Panther, L. (2020). A phase 1, randomized, placebo-controlled study to evaluate the safety and immunogenicity of an mRNA-based RSV prefusion F protein vaccine in healthy younger and older adults. *Https://Doi.Org/10.1080/21645515.2020.1829899*, 17(5), 1248–1261. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1829899>
- Ascough, S., Vlachantoni, I., Kalyan, M., Haijema, B.-J., Wallin-Weber, S., Dijkstra-Tiekstra, M., ... Chiu, C. (2019). Local and Systemic Immunity against Respiratory Syncytial Virus Induced by a Novel Intranasal Vaccine. A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Clinical Trial. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 200(4), 481. <https://doi.org/10.1164/RCCM.201810-1921OC>
- August, A., Glenn, G. M., Kpamegan, E., Hickman, S. P., Jani, D., Lu, H., ... Fries, L. F. (2017). A Phase 2 randomized, observer-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial of aluminum-adjuvanted respiratory syncytial virus F particle vaccine formulations in healthy women of childbearing age. *Vaccine*, 35(30), 3749–3759. <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2017.05.045>
- Beran, J., Lickliter, J. D., Schwarz, T. F., Johnson, C., Chu, L., Domachowske, J. B., ... Dieussaert, I. (2018). Safety and Immunogenicity of 3 Formulations of an Investigational Respiratory Syncytial Virus Vaccine in Nonpregnant Women: Results From 2 Phase 2 Trials. *The Journal of Infectious Diseases*, 217(10), 1616. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIY065>
- Bianchini, S., Silvestri, E., Argentiero, A., Fainardi, V., Pisi, G., & Esposito, S. (2020). Role of Respiratory Syncytial Virus in Pediatric Pneumonia. *Microorganisms* 2020, Vol. 8, Page 2048, 8(12), 2048. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8122048>

- Boyoglu-Barnum, S., Chirkova, T., & Anderson, L. J. (2019). Biology of Infection and Disease Pathogenesis to Guide RSV Vaccine Development. *Frontiers in Immunology*, *10*, 1675. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.01675>
- Buchholz, U. J., Cunningham, C. K., Muresan, P., Gnanashanmugam, D., Sato, P., Siberry, G. K., ... Team, I. M. P. A. A. C. T. (IMPAACT) P. S. (2018). Live Respiratory Syncytial Virus (RSV) Vaccine Candidate Containing Stabilized Temperature-Sensitivity Mutations Is Highly Attenuated in RSV-Seronegative Infants and Children. *The Journal of Infectious Diseases*, *217*(9), 1338. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIY066>
- Cicconi, P., Jones, C., Sarkar, E., Silva-Reyes, L., Klenerman, P., Lara, C. de, ... Snape, M. D. (2020). First-in-Human Randomized Study to Assess the Safety and Immunogenicity of an Investigational Respiratory Syncytial Virus (RSV) Vaccine Based on Chimpanzee-Adenovirus-155 Viral Vector–Expressing RSV Fusion, Nucleocapsid, and Antitermination Viral Proteins in Healthy Adults. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *70*(10), 2073. <https://doi.org/10.1093/CID/CIZ653>
- Collaborators, G. 2016 L. R. I. (2018). Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet. Infectious Diseases*, *18*(11), 1191. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30310-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30310-4)
- Coronavirus (COVID-19) Vaccinations - Statistics and Research - Our World in Data. (n.d.). Retrieved October 31, 2021, from <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>
- COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. (n.d.). Retrieved May 20, 2020, from <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- COVID-19 vaccines. (n.d.). Retrieved September 23, 2021, from <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines>
- DK, S., S, S., & C, B. (2017). Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in Children. *American Family Physician*, *95*(2), 94–99. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28084708/>
- Falloon, J., Talbot, H. K., Curtis, C., Ervin, J., Krieger, D., Dubovsky, F., ... Esser, M. T. (2017). Dose Selection for an Adjuvanted Respiratory Syncytial Virus F Protein

- Vaccine for Older Adults Based on Humoral and Cellular Immune Responses. *Clinical and Vaccine Immunology : CVI*, 24(9). <https://doi.org/10.1128/CVI.00157-17>
- Falloon, J., Yu, J., Esser, M. T., Villafana, T., Yu, L., Dubovsky, F., ... Falsey, A. R. (2017). An Adjuvanted, Postfusion F Protein–Based Vaccine Did Not Prevent Respiratory Syncytial Virus Illness in Older Adults. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(11), 1362. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIX503>
- Gilman, M. S. A., Liu, C., Fung, A., Behera, I., Jordan, P., Rigaux, P., ... McLellan, J. S. (2019). Structure of the Respiratory Syncytial Virus Polymerase Complex. *Cell*, 179(1), 193. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.08.014>
- Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. (2017). *Lancet (London, England)*, 390(10100), 1151–1210. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32152-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32152-9)
- Green, C. A., Sande, C. J., Scarselli, E., Capone, S., Vitelli, A., Nicosia, A., ... Pollard, A. J. (2019). Novel genetically-modified chimpanzee adenovirus and MVA-vectored respiratory syncytial virus vaccine safely boosts humoral and cellular immunity in healthy older adults. *The Journal of Infection*, 78(5), 382. <https://doi.org/10.1016/J.JINF.2019.02.003>
- Griffiths, C., Drews, S. J., & Marchant, D. J. (2017). Respiratory Syncytial Virus: Infection, Detection, and New Options for Prevention and Treatment. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(1), 277. <https://doi.org/10.1128/CMR.00010-16>
- K, W., AR, B., RA, F., E, O., E, de P., J, H., ... B, C. (2020). Phase 1 Safety and Immunogenicity Study of a Respiratory Syncytial Virus Vaccine With an Adenovirus 26 Vector Encoding Prefusion F (Ad26.RSV.preF) in Adults Aged  $\geq 60$  Years. *The Journal of Infectious Diseases*, 222(6), 979–988. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAA193>
- Kumar, B., Asha, K., Khanna, M., Ronsard, L., Meseko, C. A., & Sanicas, M. (2018, April 1). The emerging influenza virus threat: status and new prospects for its therapy and control. *Archives of Virology*, Vol. 163, pp. 831–844. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3708-y>
- Langley, J. M., Aggarwal, N., Toma, A., Halperin, S. A., McNeil, S. A., Fissette, L., ... Dieussaert, I. (2017). A Randomized, Controlled, Observer-Blinded Phase 1 Study of the Safety and Immunogenicity of a Respiratory Syncytial Virus Vaccine With or

- Without Alum Adjuvant. *The Journal of Infectious Diseases*, 215(1), 24. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIW453>
- Langley, J. M., MacDonald, L. D., Weir, G. M., MacKinnon-Cameron, D., Ye, L., McNeil, S., ... Halperin, S. A. (2018). A Respiratory Syncytial Virus Vaccine Based on the Small Hydrophobic Protein Ectodomain Presented With a Novel Lipid-Based Formulation Is Highly Immunogenic and Safe in Adults: A First-in-Humans Study. *The Journal of Infectious Diseases*, 218(3), 378. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIY177>
- Leroux-Roels, G., De Boever, F., Maes, C., Nguyen, T. L. A., Baker, S., & Gonzalez Lopez, A. (2019). Safety and immunogenicity of a respiratory syncytial virus fusion glycoprotein F subunit vaccine in healthy adults: Results of a phase 1, randomized, observer-blind, controlled, dosage-escalation study. *Vaccine*, 37(20), 2694–2703. <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2019.04.011>
- LJ, A. (2013). Respiratory syncytial virus vaccine development. *Seminars in Immunology*, 25(2), 160–171. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2013.04.011>
- Madhi, S. A., Polack, F. P., Piedra, P. A., Munoz, F. M., Trenholme, A. A., Simoes, E. A., ... Fries, L. F. (2020). Vaccination of pregnant women with respiratory syncytial virus vaccine and protection of their infants. *The New England Journal of Medicine*, 383(5), 426. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1908380>
- Mathieu, E., Ritchie, H., Ortiz-Ospina, E., Roser, M., Hasell, J., Appel, C., ... Rodés-Guirao, L. (2021). A global database of COVID-19 vaccinations. *Nature Human Behaviour*, 5(7), 947–953. <https://doi.org/10.1038/S41562-021-01122-8>
- McFarland, E. J., Karron, R. A., Muresan, P., Cunningham, C. K., Perlowski, C., Libous, J., ... Buchholz, U. J. (2020). Live-Attenuated Respiratory Syncytial Virus Vaccine With M2-2 Deletion and With Small Hydrophobic Noncoding Region Is Highly Immunogenic in Children. *The Journal of Infectious Diseases*, 221(12), 2050. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAA049>
- Murdoch, D. R., & Howie, S. R. C. (2018, November 1). The global burden of lower respiratory infections: making progress, but we need to do better. *The Lancet Infectious Diseases*, Vol. 18, pp. 1162–1163. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30407-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30407-9)
- Nair, H., Shi, T., Denouel, A., Tietjen, A. K., Campbell, I., Moran, E., ... Nair, H. (2019). The Journal of Infectious Diseases Global Disease Burden Estimates of Respiratory Syncytial Virus-Associated Acute Respiratory Infection in Older Adults in 2015: A

- Systematic Review and Meta-Analysis We conducted a systematic review across 9 databases (including 3 Chinese databases) following the approach detailed in the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) guidelines [4]. *The Journal of Infectious Diseases* ®, 1–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz059>
- One is Too Many: Ending child deaths from pneumonia and diarrhoea - UNICEF DATA. (n.d.). Retrieved September 23, 2021, from <https://data.unicef.org/resources/one-many-ending-child-deaths-pneumonia-diarrhoea/>
- Our World in Data. (n.d.). Retrieved November 4, 2021, from <https://ourworldindata.org/>
- Samy, N., Reichhardt, D., Schmidt, D., Chen, L. M., Silbernagl, G., Vidojkovic, S., ... Chaplin, P. (2020). Safety and immunogenicity of novel modified vaccinia Ankara-vectored RSV vaccine: A randomized phase I clinical trial. *Vaccine*, 38(11), 2608–2619. <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2020.01.055>
- Schwarz, T. F., McPhee, R. A., Launay, O., Leroux-Roels, G., Talli, J., Picciolato, M., ... Schmidt, A. C. (2019). Immunogenicity and Safety of 3 Formulations of a Respiratory Syncytial Virus Candidate Vaccine in Nonpregnant Women: A Phase 2, Randomized Trial. *The Journal of Infectious Diseases*, 220(11), 1816. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIZ395>
- Subbarao, K., & Mahanty, S. (2020). Respiratory Virus Infections: Understanding COVID-19. *Immunity*, 52(6), 905. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2020.05.004>
- Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development | Department of Economic and Social Affairs. (n.d.). Retrieved September 23, 2021, from <https://sdgs.un.org/2030agenda>
- Valenciano, M., Kissling, E., Reuss, A., Rizzo, C., Gherasim, A., Horváth, J. K., ... Moren, A. (2016). Vaccine effectiveness in preventing laboratory-confirmed influenza in primary care patients in a season of co-circulation of influenza A(H1N1)pdm09, B and drifted A(H3N2), I-MOVE multicentre case-control study, Europe 2014/15. *Eurosurveillance*, 21(7). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.7.30139>
- Verdijk, P., van der Plas, J. L., van Brummelen, E. M. J., Jeeninga, R. E., de Haan, C. A. M., Roestenberg, M., ... Kamerling, I. M. C. (2020). First-in-human administration of a live-attenuated RSV vaccine lacking the G-protein assessing safety, tolerability, shedding and immunogenicity: a randomized controlled trial. *Vaccine*, 38(39), 6088–6095. <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2020.07.029>

- Wang, X., Li, Y., O'Brien, K. L., Madhi, S. A., Widdowson, M. A., Byass, P., ... Nair, H. (2020). Global burden of respiratory infections associated with seasonal influenza in children under 5 years in 2018: a systematic review and modelling study. *The Lancet Global Health*, 8(4), e497–e510. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30545-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30545-5)
- Weinberg, A., Lambert, S. L., Canniff, J., Yu, L., Lang, N., Esser, M. T., ... Levin, M. J. (2019). Antibody and B cell responses to an investigational adjuvanted RSV vaccine for older adults. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 15(10), 2466. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1589282>