

OS AVANÇOS DA BIOTECNOLOGIA NO DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

Isabella Rocha Castelane; Jessica Maiara Bartholomeu; Matheus Pereira Sudario; Grazielle de Morais Piffer.

RESUMO

A biotecnologia esteve presente durante todo desenvolvimento de vacinas desde os descobrimentos de Jenner e Pasteur, até a inovação das técnicas de manipulação gênica. Atualmente os avanços da biotecnologia possibilitaram um aprimoramento nas vacinas de primeira e segunda geração, além do desenvolvimento da vacina de DNA que possibilitou novas formas de combater doenças e infecções, como a dengue e o câncer.

Palavras-chave: Vacinas; biotecnologia; DNA; vacinas de DNA.

ABSTRACT

Biotechnology was present throughout the development of vaccines, from the discoveries of Jenner and Pasteur, to the innovation of gene manipulation techniques. Currently, advances in biotechnology have enabled an improvement in first and second generation vaccines, in addition to the development of the DNA vaccine, which has allowed new ways of fighting diseases and infections, such as dengue and cancer.

Key-words: Vaccines; biotechnology; DNA; DNA vaccines.

INTRODUÇÃO

A biotecnologia é uma vertente da biologia que utiliza e desenvolve tecnologias a partir de organismos vivos para produzir, ou atualizar, novos métodos e produtos com o intuito de melhorar nossa sociedade (AZEVEDO, 2008).

O surgimento da biotecnologia moderna se deu com a descoberta da recombinação do DNA em 1866 por Thomas Mendel, e teve grandes marcos como o descobrimento da estrutura do DNA em 1953, por James Watson e Francis Crick, e a possibilidade do próprio ser isolado, manipulado e copiado (LOHBAUER, 2021).

Quando voltada para a área da saúde, a biotecnologia trouxe diversas inovações, como novas formas de tratamento e prevenção de doenças, além do desenvolvimento e aperfeiçoamento de vacinas (SPECTRUN, 2020).

A vacinação teve como objetivo primordial, a prevenção de doenças e infecções, utilizando um contato prévio do indivíduo com o antígeno para gerar uma memória imunológica que vai garantir uma eliminação mais rápida e eficiente do microorganismo em um próximo contato (COMITÊ TÉCNICO ASAP, 2021).

O pioneiro no desenvolvimento da vacina foi Edward Jenner, que em maio de 1796, extraiu pus das mãos de uma ordenhadora que teria sido exposta a varíola conquistando uma imunização, e o inoculou em um menino saudável de oito anos. Pouco tempo depois foi observado que o garoto não foi afetado pela doença confirmando a teoria de Jenner, possibilitando a imunização em massa da população contra a varíola (DINIZ, 2010).

Atualmente a aplicação da biotecnológica moderna permitiu a criação de vacinas mais eficazes e seguras, ou seja, que busca empregar frações menores de patógenos, sejam eles vírus ou bactérias, inativas ou atenuadas. Dessa forma, se pode catalogar as vacinas em três gerações (TABELA 1) quanto aos métodos utilizados na preparação dos antígenos vacinais, a primeira geração foi produzida com micro-organismos vivos ou atenuados; a segunda emprega toxinas inativas, polissacarídeos e proteínas purificadas no organismo; e a terceira geração, também chamada de vacinas de DNA ou genicas, utiliza o gene ou apenas um fragmento de um antígeno, como um estimulante para o próprio sistema imunológico (GÓES-FAVONI, 2016).

Tabela 1- Principais contribuições da biotecnologia no desenvolvimento de vacinas

Geração	Tipo vacinal	Estratégia biotecnológica
Primeira	Patógenos atenuados bivalentes	Manipulação genética para inserção de genes que codifiquem antígenos
Segunda	Vacinas de subunidades	Produção de proteínas recombinantes em sistemas heterólogos
Terceira	Vacinas de DNA	Imunização com plasmídeos recombinantes

Fonte: DINIZ, 13/10/2010

A aplicação da biotecnologia para o desenvolvimento da vacina de DNA revolucionou o modo de como o mundo visualizava a elaboração de vacinas, sendo um marco para a história da ciência. Podemos citar a disseminação das técnicas de manipulação genética, como estratégias de clonagem gênica e mutagênese para gerar micro-organismos atenuados de forma mais segura; além do aprimoramento das técnicas de produção de proteínas recombinantes utilizando sistemas de expressão heteróloga, leveduras, bactérias e insetos são usados como material para os antígenos que serão introduzidos nas fórmulas vacinais (AZEVEDO, 2008).

MÉTODO

A metodologia de pesquisa utilizada neste artigo foi a revisão de bibliografia no formato narrativo, esse método permite explorar teorias a partir de ideias mais amplas. As informações presentes neste artigo foram obtidas através de artigos acadêmicos presentes nos sites PubMed (PublicMedline), SciELO (Scientific Eletronic Library Online), Google Academics, e outros diversos sites do Google. Para a busca de artigos científicos foram utilizados as palavras-chave: biomedicina, vacinas, vacinas de DNA, biotecnologia, vacinas terapêuticas.

OBJETIVO

Relatar a importância da biotecnologia no desenvolvimento de vacinas, desdobrando seus avanços com o passar de suas gerações, além do enfoque nas vacinas de DNA e suas vantagens e desvantagens no mundo atual.

DESENVOLVIMENTO

VACINAS DE PRIMEIRA GERAÇÃO

As vacinas da primeira geração utilizam em sua composição o agente patogênico, ou seja, microrganismos vivos ou mortos, que foram submetidos a tratamentos causando sua atenuação, como a vacina contra o sarampo e rubéola (MMR), ou sua inativação como a vacina contra Bordetella pertussis(Coqueluche) (ANDRIANI, 2021).

Um dos métodos utilizados para desenvolver as vacinas da primeira geração é a atenuação do antígeno. Nesta abordagem encontra-se o vírus vivo, mas enfraquecido, por conta de um processo no qual sua virulência(patogenicidade), é reduzida de forma controlada e segura para sua aplicação clínica, de modo a não proliferar a doença, mas sim estimular a resposta imunológica. Para que este evento seja realizado, é necessário promover infecções sequenciais do vírus patogênico em ovos embrionados ou em células in vitro, fazendo com que seja acometido mutações ao próprio diminuindo sua virulência, sem, todavia,

prejudicar sua capacidade de se replicar. A convivência com o vírus durante sua lenta replicação viral gera uma resposta imune que resulta na produção de células de memória (linfócito T e B) instituindo uma imunização contra determinado vírus. Esse método possui a vantagem de produzir uma infecção natural gerando uma melhor proteção, além disso, geralmente, utiliza-se apenas uma dose. Dentre as desvantagens pode-se citar a ocorrência, em raríssimos casos, da reversão do vírus para o tipo virulento (VACINAÇÃO SEM DÚVIDA, 2022).

Além da atenuação pode-se ser utilizado a inativação dos micro-organismos. Este método utiliza o vírus ou bactéria morta, estado que foi ocasionado pela interação com agentes químicos, radiação ou pelo calor, incapacitando, dessa forma, sua “reprodução”, mas mantendo seus componentes e estruturas intactos capacitando a estimulação do sistema imunológico do indivíduo. Uma das suas vantagens é a causa de pouca ou nenhuma reação após seu uso, se tornando segura para crianças, contudo possui um tempo de produção lenta por necessitar de instalações laboratoriais especiais para seu cultivo, além de exigir duas ou três doses para sua administração. Alguns exemplos de vacinas que utilizam esse método são a poliomielite injetável (VIP), gripe, raiva e hepatite A (BIOEMFOCO, 2021).

Outro método alternativo de produção de vacinas adotada na primeira geração foi o uso de micro-organismos não patogênicos originados por outro hospedeiro como antígenos para vacinas que possuem patógenos assemelhados, podemos citar o exemplo da vacina da varíola que utiliza o Cowpox vírus (Varíola), originário em bovinos (VACINAÇÃO SEM DÚVIDA, 2022).

VACINAS DE SEGUNDA GERAÇÃO

A segunda geração introduziu um método denominado subunidade dos patógenos que se baseia na ideia de utilizar apenas partes específicas de uma bactéria ou vírus que sistema imunológico precisa identificar. Dessa forma o sistema imune detectaria e eliminaria o “invasor” sem ele ter que se proliferar no organismo. Este grupo pode, então, ser denominado de vacinas acelulares, ou seja, que não empregam o patógeno inteiro em sua composição. Destacam-se a utilização de toxoides (toxinas purificadas e inativadas), polissacarídeos purificados e proteínas na formação das vacinas acelulares, como as de hepatite B e antitetânica. (IMUNE VIDA, 2022).

Nas vacinas de toxoides não é necessário utilizar a bactéria ou o vírus em sua composição, apenas toxinas modificadas dos patógenos para gerar uma resposta imune. Geralmente gera uma imunização fraca necessitando de manutenção durante os anos, como exemplos podemos citar as vacinas contra o tétano e difteria. As vacinas de polissacarídeos purificados utilizam açúcares como antígenos para induzir uma resposta imunológica. Em alguns casos bactérias utilizam como defesa uma capa de polissacarídeos dificultando ação do sistema imunológico, como é o caso da pneumonia e meningite, assim leva um tempo para a liberação de anticorpos podendo ser fatal em alguns casos. Dessa forma a vacina utiliza os polissacarídeos presentes nessas bactérias para gerar anticorpos garantindo uma resposta imune rápida quando ocorrer a infecção. Podemos citar a vacina contra o pneumococo. As vacinas conjugadas utilizam proteínas ligadas aos polissacarídeos da bactéria ou vírus para aumentar a resposta imunológica. Contudo apesar de eficiente não garante uma imunidade duradoura tendo que ser reforçada durante os anos (SAVOY, 2023).

Por fim uma das descobertas mais importantes para a biologia molecular foram as vacinas recombinantes. Utilizando a tecnologia de DNA recombinante modifica-se o DNA de um agente inofensivo para a produção de um fragmento do agente causador da infecção, como, por exemplo, uma levedura para a produção de antígenos do vírus da hepatite B. Quando modificado os antígenos são isolados e depositados em vacinas que quando administradas vão causar uma resposta imunológica sem a necessidade de entrar em contato com o vírus. Dentre as vantagens da vacina recombinante é o baixo risco (ou risco nenhum) de transmissão, por ter sido produzido a partir da manipulação do DNA do vírus tendo antígenos semelhantes aos do patógeno; além de não necessitar de células vivas, evitando o problema de alguns vírus não crescerem em cultivo celular, como o da hepatite B (MUNIZ, 2022).

Atualmente por conta de novas descobertas da biotecnologia voltadas para os métodos da segunda geração, como a produção de proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos, a vacinologia recebe mais investimentos e interesses do mercado, tanto pela segurança de seu uso quanto pelo retorno financeiro que as vacinas de subunidade com antígenos recombinantes propõem, podendo citar as vacinas contra a hepatite B e HPV (SAVOY, 2023).

VACINAS DE TERCEIRA GERAÇÃO OU VACINAS DE DNA

A terceira geração revolucionou o modo de como o mundo visualizava a elaboração de vacinas, sendo um marco para a história da ciência. Ao contrário das vacinas da primeira e segunda geração as vacinas de DNA, ou vacinas gênicas, geram uma resposta imune celular e humoral, caracterizada pela introdução de genes ou seus fragmentos que codificam as proteínas (antígeno) do vírus estimulando o próprio sistema imunológico. As vacinas de DNA são consequência dos avanços biotecnológicos em DNA recombinante. A partir do ano de 1993 com a demonstração da eficácia de uma vacina de DNA contra a Influenza A em ratos, o método se tornou o campo de pesquisa que mais cresce na tecnologia de vacinas, desenvolvendo cada vez mais novas estratégias para seu desenvolvimento e aperfeiçoamento (KANO; VIDOTTO; VIDOTTO, 2007).

Quando já dentro do organismo, os plasmídeos adentram as membranas citoplasmáticas e nuclear e utiliza o maquinário de produção de proteínas, ou seja, mecanismo que transcreve e traduz as proteínas do organismo, para criar as proteínas do patógeno específico. Essa ação irá desencadear uma série de respostas imunológicas como anticorpos, células de memória e citotóxicas para a defesa do organismo (VACNDERBORGHT, 03/12/2021).

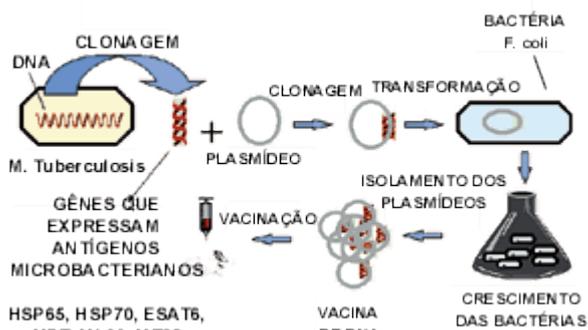
Construção da vacina de DNA

Primeiramente deve-se constatar o que um vetor ideal que expressa genes em células de mamíferos deve possuir para o desenvolvimento de uma vacina: (1) deve ser de fácil produção; (2) possuir grande capacidade genômica; (3) garantir a não replicação autônoma do DNA; (4) assegurar uma expressão genica por uma longa variação de tempo; (5) direcionar a resposta imune aos tipos específicos de células; (6) não possuir toxicidade; (7) e não induzir reações autoimunes nos indivíduos. Os vetores virais e plasmidiais são os mais utilizados nesse método (CURTA; SIMÃO; SEGER, 2008). (FIGURA 1).

As etapas se iniciam, então, com a identificação e isolamento do gene (DNA) imunogênico que deve ser inserido em seguida em um plasmídeo que permitirá a replicação e expressão do gene em qualquer tipo celular, ou seja, células procarióticas e eucarióticas. Os plasmídeos recorridos como vacinas de DNA devem conter como elementos essenciais: (a) um marcador de seleção; (b) um promotor de expressão para células de mamíferos; (c) sinal de polidroxilação do transcrito; (d) uma origem de replicação procariótica e (e) um sítio de clonagem contínua onde será inserido determinado gene (KANO; VIDOTTO; VIDOTTO, 2007).

Depois que ocorre a clonagem do gene no plasmídeo, o introduz em bactérias hospedeiras para reproduzir os plasmídeos em massa e ter o suficiente de DNA para a vacinação. Esse método é mais simples e acessível que o de proteínas recombinantes da segunda geração, além disso sua eficácia e resultados tem dado apoio a estudos clínicos para diversas doenças como o câncer (WATSON, 2006).

FIGURA 1: Processo para construção da vacina de DNA



Fonte: SILVA, 01/10/99

VANTAGENS E DESVANTAGENS DA VACINA DE DNA

Comparado com os métodos da segunda e terceira geração, as vacinas de DNA possuem diversas vantagens, sendo elas técnicas, econômicas e logísticas. O custo de produção de vacinas genéticas é menor quando comparada com as de subunidade dos patógenos, peptídeos sintéticos e recombinantes. Além disso, pela alta estabilidade do DNA em temperaturas elevadas, não necessitam de um sistema de refrigeração, facilitando, assim, seu transporte e distribuição em locais de difícil acesso, fato interessante para países em desenvolvimento (SILVA, 1999).

Sua principal vantagem seria a indução da produção de linfócitos T e anticorpos, gerando uma resposta imunológica; ademais as vacinas de DNA não possuem o risco de reverter a atenuação; não são afetados por anticorpos maternos; possuem rápida adaptação a variantes antigênicas; e estimulam respostas imunes humorais e celulares (KANO; VIDOTTO; VIDOTTO, 2007).

As desvantagens que podem ser originadas com vacinas genéticas são: integração do DNA ao genoma do hospedeiro, causando mutações pela estimulação de proto-oncogenes ou a paralisação de genes supressores de tumor (estudos confirmam que a ocorrência de tal reação ocorrer é ínfima, contudo ensaios de integração são necessários para qualquer material genético usado na produção de vacinas de uso clínico); arduidade em selecionar correlacionar e reconhecer toda as partes do DNA de um patógeno; risco de induzir uma doença autoimune e tolerância do hospedeiro as substâncias ativadas pelo DNA (FIOCRUZ, 2022).(TABELA 2).

TABELA 2: Vantagens e desvantagens das vacinas

Tipos de Vacinas	Vantagens	Desvantagens
Vacinas inativas	Menor tendência de induzir reação	Requer doses de reforço para a manutenção da imunidade.
Vacinas atenuadas	Maior eficácia	Indução de inflamações locais e sistêmicas, e perigo de causar doenças.
Vacinas recombinantes P	Produção de linfócitos T auxiliares (CD4) e (CD8), Citocinas na produção de anticorpos.	Imunização limitada, age apenas com os componentes proteicos do patógeno.

Fonte: MAGALHÃES, 2012-2021

Ademais, quando testadas em humanos e primatas, as vacinas de DNA apresentaram uma baixa imunogenicidade, o que instigou pesquisadores a procurarem métodos para aumentar de alguma forma essa performance. Algumas das estratégias utilizadas foram a administração de adjuvantes químicos e

genéticos, aprimoramento do vetor e métodos para introduzir o DNA nas células do hospedeiro como a eletroporação e micropartículas (ALMEIDA, 2021).

Pesquisas e Avanços com vacinas de DNA Atualmente existem diversas vacinas sendo produzidas utilizando a tecnologia das vacinas de DNA tanto internacionalmente quanto nacionalmente. Cientistas do Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia de Infecções Virais no Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) publicaram um artigo na revista científica Plos Neglected Tropical Diseases sobre a produção de uma vacina de DNA, chamada pcTPANS1, que estimula a imunidade contra a dengue. Tendo a capacidade protetora comprovada em modelos animais, o estudo expõe a necessidade da ativação de células de defesa, além da produção de anticorpos, é fundamental para a proteção contra o vírus da dengue (CASTRO, 2016).

O imunizante fabricado através de engenharia genética tem como base uma sequência específica de DNA do próprio patógeno que orienta a produção de uma proteína denominada de NS1. De acordo com a líder do estudo, a pesquisadora Ada Alves, chefe do Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia de Infecções Virais do IOC, o contato com a molécula de NS1 através da vacinação induz o sistema imunológico a reconhecer o sorotipo 2 do vírus da dengue, permitindo uma reação mais rápida em futuras infecções evitando o adoecimento (MENEZES, 2016).

Podemos citar outra uma pesquisa realizada por pesquisadores do Centro de Câncer da Mayo Clinic nos Estados Unidos que trabalham no desenvolvimento de vacinas terapêuticas personalizadas para prevenir avanços dos tumores e garantir imunidade a longo prazo aos pacientes. Testes pre-clínicos com animais mostram que, em alguns casos, houve êxito no encolhimento de tumores utilizando a vacina, além de que combinada com imunoterapia se mostrou eficaz no prolongamento de vida de animais em tratamento contra câncer de mama sem gerar grande toxicidade. De acordo com o líder do projeto o médico Keith Knutson, do Programa de Vacinas Personalizadas com Neoantígeno da Mayo Clinic e um dos encarregados pelo Programa de Imunologia e Imunoterapia do Centro de Câncer da Mayo Clinic, na Florida, “Podemos estar gerando imunidade que visa especificamente o câncer de mama, mas pensamos que a imunidade também pode ser protetora contra outros tipos de câncer”, disse Knutson no início de fevereiro do ano de 2023 em entrevista ao jornal Fortune (THEIMER, 2023).

CONCLUSÃO

Atualmente a aplicação da biotecnologia moderna permitiu a criação de vacinas mais eficazes e seguras, aprimorando as técnicas da primeira e segunda geração ou até mesmo desenvolvendo novos métodos de produção como no caso das vacinas de DNA. Comparado com os outros tipos de produção de vacinas, as vacinas genicas (DNA) possui grandes vantagens como ser mais estável e por gerar tanto uma resposta imune humoral quanto cerebral. Diante do exposto, é possível confirmar que embora as desvantagens, com os avanços tecnológicos e aprimoramento de adjuvantes, a vacina de DNA será o principal método utilizado na geração atual.

REFERÊNCIAS E NOTAS

ALMEIDA, Lucas. Vacina RNA e DNA: afinal, qual a diferença entre elas?. NEXXO, 02/02/2021. Disponível em: <https://nexxto.com/vacina-rna-e-dna-afinal-qual-a-diferencaentre-elas/>

ALVES, M. D. F. S. et al. A história da vacina: uma abordagem imunológica. Mostra Científica de Biomedicina, vol. 4, n 1, Quixadá, 2019.

ANDRIANI, Leandro. Vacinas de DNA e RNA: você sabe a diferença e a relação com a covid-19?. Vaccine Ciências de vacinas, 05/04/2021. Disponível em: <https://vacinasvaccine.com.br/vacinas-dna-erna-voce-sabe-a-diferenca/>

AZEVEDO, V. A. C. Biotecnologia na produção de vacinas e kits de diagnóstico. Ciênc. vet. tróp, Recife-PE, v. 11, suplemento 1, p. 126-129, abril, 2008.

BATISTA, Carolina. Biomedicina. Toda Matéria. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/biotecnologia/>. Acesso em: 23/03/2023.

BIOEMFOCO. Como são feitos os diferentes tipos de vacina?. Bioemfoco, 02/03/2021. Disponível em: <https://bioemfoco.com.br/noticia/como-sao-feitos-os-diferentestipos-de-vacina/>

BRASÍLIA. História da Biomedicina. Conselho Federal de Biomedicina. Brasília DF, c2020. Disponível em: <https://cfbm.gov.br/o-que-fazemos/historia-da-biomedicina/>. Acesso em: 04/04/2023.

CASTRO, Regina. Vacina de DNA contra dengue revela imunidade dupla. FIOCRUZ, 22/03/2016. Disponível em: <https://rededengue.fiocruz.br/noticias/351-vacina-de-dna-contra-dengue-revela-imunidade-dupla>

COMITÊ TÉCNICO ASAP. O que é vacinação?. Asap, Aliança para a saúde populacional, 07/01/2021. Disponível em: <https://asapsaude.org.br/jornada-de-gsp/o-que-e-vacinacao/3060/>. Acesso em: 20/03/2023.

CUNHA, Felipe A. F. Vacinas: Benefícios e uso no combate a doenças infecciosas – Uma revisão integrativa. P, 33. (Curso de Graduação em Biomedicina) - FACENE/RN, Nova Esperança de Mossoró, 02/12/2021.

CURTA, Juliana C.; SIMÃO, R. de C. G.; SEGER, Juliana. Vacina de DNA contra doenças infecciosas. Rev. bras. anal.clin; n. 40(3), p. 187-191, 2008. DINIZ, Mariana de O; FERREIRA, Luís C. S. Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas. SciELO Brasil, Dossiê Biotecnologia. 13/10/2010.

FILHO, Lauro A.C. 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: 20/03/2023.

FIOCRUZ. Instituto de tecnologia em imunobiológicos Biomanguinhos. Vetores Virais. 04/03/2022

GÓES-FAVONI, Silvana P. de. Biotecnologia Moderna Parte 1: A história da ciência revisão de literatura, Revista Unimar Ciências, n 1-2, p 20-27, 2016.

HE, Q. et al. COVID-19 Vaccines: Current Understanding of Immunogenicity, Safety, and Additional Considerations. Frontiers in Immunology Pequim, v. 12, n.p, 2021.

HOMMA, A. et al. Atualização em vacinas, imunização e inovação tecnológica. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos de Bio-Manguinhos. Rio de Janeiro, 2010. IMUNE VIDA. Conheça as diferenças entre a Vacina Acelular e a Vacina Celular. Imunevida, 19/07/2022. Disponível em: <https://imunevida.com.br/blog/diferencas-entrevacina-acelular-e-vacina-celular.html>

KANO, Flora S.; VIDOTTO, Odilon; VIDOTTO, Marilda C. Vacina de DNA: aspectos gerais e sua aplicação na medicina humana e veterinária. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, n.4, p.709-726, out/dez, 2007.

LINDEN, Rafael. Terapia genica: o que é, o que não é e o que será. SciELO Brasil, Dossiê Biotecnologia – Estud. av. 24 (70) – 2010. 17/08/2010.

LOHBAUER, Dr. Christian. Biotecnologia moderna: você precisa dela para viver. Canal agro, 26/01/2021 Disponível em: <https://summitagro.estadao.com.br/colunistas/biotecnologia-moderna-voce-precisa-dela-para-viver/>. Acesso em: 20/03/2023.

SILVA, C. L. Biotecnologia aplicada às vacinas de DNA: Técnicas e Avanços. Associação Caruaruense de Ensino Superior(ASCES), p.13, 2012-2021.

MAGALHES, Franklin B; Santos, W. J. T; SILVA, C. L. Biotecnologia aplicada às vacinas de DNA: Técnicas e Avanços. Associação Caruaruense de Ensino Superior(ASCES), p.13, 2012-2021.

MENEZES, Maíra. Imunidade dupla contra a dengue. Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, 21/03/2016. Disponível em: <https://www.ioc.fiocruz.br/noticias/imunidade-dupla-contradengue>

MUNIZ, Eduardo. A tecnologia das vacinas vetorizadas – tudo aquilo que você sempre quis saber. Zoetis Brasil, 21/07/2022. Disponível em: <https://www.zoetis.com.br/paineldaavicultura/posts/128-atecnologia-das-vacinas-vetorizadas.aspx>

SALOMON, R. C. F. et al. Farmacologia de Vacinas. Boletim de Farmacovigilância. Vigimed, Brasília, n. 11, 2020.

SAVOY, Margot L. Vacinação pneumocócica. Manual MSD Versão saúde para a família, jan 2023. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/casa/infec%C3%A7%C3%B5es/imuniza%C3%A7%C3%A3o/vacina%C3%A7%C3%A3o-pneumoc%C3%B3cica>

SILVA, C. L. et al. Biotecnologia e Vacinas Gênicas. Vacina gênica contra tuberculose, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 01/10/99. Disponível em: <https://www.comciencia.br/dossies-1-72/reportagens/tuberc/tuberc3.htm>

SPECTRUN. A relação da biotecnologia com o desenvolvimento de vacinas. Spectrun, 29/06/2020. Ciências Biomédicas. Disponível em <https://www.spectrun.com.br/blog/ciencias-biomedicas/biotecnologia-aplicada-ao-desenvolvimento-de-vacinas/>

SYKES, K. Progress in the development of genetic immunization. Expert Rev. Vaccines, v.7, n.9, p.1395-404, 2008.

THEIMER, Sharon. Pesquisadores da Mayo Clinic desenvolvem vacinas terapêuticas personalizadas para combater o câncer. Mayo Clinic, 26/01/2023. Disponível em: <https://newsnetwork.mayoclinic.org/pt/2023/01/26/pesquisadores-da-mayo-clinic-desenvolvem-vacinas-terapeuticas-personalizadas-para-combater-o-cancer/>

VACINAÇÃO SEM DÚVIDA. Vírus atenuado ou inativo: conheça os diferentes tipos de vacina. Vacinação sem dúvida, fev,2022. Disponível em: <https://www.sanoficonecta.com.br/campanha/vacinacao-semduvida/quem-ama-vacina/virus-atenuado-ou-inativadodiferenca>.

VANDERBORGHT, Patrícia R. Vacinas: Entenda as diferenças entre as gerações. RICHET, 03/12/2021. Disponível em <https://richet.com.br/clientes/novidades/vacinas-entenda-as-diferencas-entre-as-geracoes>

WATSON, J. D. et al. Recombinant DNA: genes and genomics: a short course. S. I.: Freeman, 2006. 474p.