



04/27-03/116

Rev. bras. alerg. imunopatol.

Copyright © 2004 by SBAI

ARTIGO DE REVISÃO

Adjuvantes de vacinas: possibilidades de uso em seres humanos ou animais

Vaccine adjuvants: possibilities for use in humans or animals

Fabíola C. B. e Resende¹, Jean Passold², Sílvia I. A. C. Ferreira³,
Carlos R. Zanetti⁴, Hermênio C. Lima⁵

Resumo

Objetivo: Rever de forma sistemática as substâncias adjuvantes mais estudadas, utilizadas e as novas substâncias; com o intuito de atualizar os conceitos de sua ação por atuarem, juntamente com o antígeno, no sistema imunológico e seu futuro uso em vacinas humanas ou animais.

Métodos: Foi realizada revisão sistemática em livros e da literatura publicada no Medline[®] a partir do ano de 1969. Foram selecionados artigos que abordassem o tema “adjuvantes” nos seguintes aspectos: Resposta inflamatória, resposta imune celular, resposta imune humoral, seqüelas, proteção.

Resultados: Foram selecionados artigos originais ou capítulos de livros abordando este tema. Observou-se haver diferenças na capacidade de indução inflamatória entre os diferentes adjuvantes. Estas diferenças podem resultar em padrões de resposta imune celular e humoral diferenciados, de acordo com a célula mais estimulada. Assim, adjuvantes indutores de migração predominantemente mononuclear parecem facilitar respostas do padrão celular e humoral. Respostas mais neutrofílicas podem resultar em maiores efeitos colaterais locais e/ou sistêmicos e também podem ser associados à redução da disponibilidade antigênica para o sistema imunológico.

Conclusões: O sistema imunológico animal ou humano pode se comportar de maneira diferenciada frente aos diferentes tipos de substâncias adjuvantes. Os mesmos mecanismos usados pelo organismo para proteção contra infecções podem, em situações particulares, serem causadores de doenças, por isso a importância do estudo individual de cada adjuvante a ser

Abstract:

Objective: To systematically review the adjuvants used, to study the new substances with the aim of update the concepts of the use of these substances, which act together with the antigen, when in contact with the immunological system, and their use for human or animal vaccine.

Methods: A literature systematic review was accomplished based on Medline data bank starting from 1969. Original articles on adjuvants discussing inflammatory response, cellular immune response, humoral immune response, side-effects and protection aspects were selected.

Results: Original articles or book chapters were selected. We could observe that there are differences in the inflammatory capacity among the different adjuvants. These differences can result in some patterns of cellular and humoral immune responses, in agreement with cell which is more stimulated. Therefore, adjuvants which induce mononuclear activation seem to facilitate cellular and humoral response. A more granulocytic response can result in more local or systemic side-effects and can also be associated with a reduction of antigen capacity for the immune system stimuli.

Conclusion: The animal or human immunological system behaves different when challenged with some adjuvants. Once the same mechanisms used by the organism for protection against infections can induce diseases, there is an important aspect in studying each adjuvant to be used in a particular situation. Moreover, there is a need of finding substances that can be

utilizado em cada situação e a necessidade de se encontrar uma substância que seja efetiva frente a grande número de antígenos e que diminua sobremaneira possíveis seqüelas.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2004; 27(3):116-124
adjuvantes, vacinas, resposta inflamatória, resposta imunológica

1- Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Área Saúde, do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); 2- Mestrando do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Área Saúde, do Centro de Ciências Biológicas da UFSC; 3- Médica, Patologista Clínica, chefe do setor de citometria de fluxo do HEMOSC e do Laboratório Santa Luzia; 4- Professor Adjunto do Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSC; 5- Médico Alergista, Imunologista Clínico e Dermatologista, Professor Adjunto do Departamento de Patologia Médica, Chefe da Disciplina de Imunologia Clínica da Universidade Federal do Paraná, Pesquisador do Centro de Genética Molecular e Pesquisa do Câncer em Criança (CEGEMPAC).

Introdução

Enquanto a pesquisa por vacinas ainda estava em desenvolvimento, investigadores já notavam que adicionando certos compostos a um inóculo poderia se aumentar a resposta imune obtida. Com essas observações, a ciência dos adjuvantes começou. Inicialmente, os adjuvantes eram compostos principalmente por matérias brutas. Por exemplo, notou-se que adicionando pús à toxina da difteria obtinha-se aumento de resposta anti-toxina em cavalos¹. Resultados similares foram demonstrados por Gupta com hidróxido de alumínio, ágar, lecitina, óleo de amido, saponinas, tapioca e inclusive migalhas de pão, em resposta ao tétano e à vacina contra difteria². A adição de estimulantes impuros causou vários efeitos adversos como esperado.

Qualquer material que aumente ou ocasione resposta imune a um antígeno é considerado um adjuvante. Adjuvantes são substâncias imunopotencializadoras, podendo ser compostos naturais ou sintéticos. O uso de adjuvantes em vacinas é particularmente importante quando o antígeno possui baixa imunogenicidade. Isto se aplica para antígenos constituídos por subunidades de peptídeos e peptídeos recombinantes, cuja estrutura e conformação são menos complexas que vírus e bactérias intactos inativados. A utilidade de um

effective for the great number of antigens and with a small amount of side-effects.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2004; 27(3):116-124
adjuvants, vaccines, inflammatory response, immune response

adjuvante é dependente de sua segurança e capacidade em estimular a imunidade por longos períodos³.

Historicamente, os melhores componentes utilizados como adjuvantes de vacinas incluem extratos de parede bacteriana (principalmente de micobactérias), óleos de parafinas, sais de metais (alumínio), endotoxinas e óleo mineral. Recentemente, lipossomos, interferon, complexos imuno estimulantes (ISCOMS) e citocinas têm sido utilizados ou investigados como potenciais adjuvantes⁴.

A utilização de substâncias adjuvantes auxilia a formação de uma resposta imune de maior intensidade, de maior duração e mais rápida com uma quantidade menor de antígeno, podendo assim diminuir custos na produção de vacinas. Por exemplo; a produção de vacinas sintéticas e de subunidades é muito dispendiosa; com a utilização de adjuvantes potentes, menor quantidade de antígeno será requerida para a estimulação de resposta imune efetiva. Este aspecto é importante para a produção de vacinas de combinações, onde, com o uso de substâncias adjuvantes, a quantidade dos antígenos poderá ser diminuída, reduzindo também, problemas como, por exemplo, competição entre os antígenos⁵.

Atualmente, com a utilização de adjuvantes, a resposta imunológica pode ser modulada seletivamente para o Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) Classe I ou MHC classe II e resposta tipo T helper -1 (Th1), que é muito importante para formação de resposta protetora contra patógenos intracelulares, como vírus, parasitas e bactérias⁵, ou Th2, que se direciona para antígenos e microorganismos extracelulares.

A resposta MHC classe I usualmente está relacionada à resposta contra antígenos intracelulares, como vírus, conduzida por linfócitos T Citotóxicos (CTL). Esta resposta não é usualmente observada com antígenos de peptídeos. Muitos adjuvantes podem induzir uma resposta por CTL a

peptídeos e vírus inativados^{2,6,7}. Por outro lado, resposta MHC classe II está relacionada a antígenos protéicos ou organismos inativados⁸, induzindo a produção de anticorpos. Muitos adjuvantes são eficientes em induzir uma resposta de MHC de classe II, como por exemplo, o adjuvante de Freud⁵.

Vários mecanismos são propostos para explicar a eficiência dos adjuvantes e como eles podem melhorar a resposta da vacina ao antígeno. Os adjuvantes podem induzir inflamação local aumentando o contato do antígeno com células adicionais que são atraídas para o local; formar um depósito de antígeno liberando-o mais lentamente e prolongando assim sua interação com o macrófago⁴; aumentar a velocidade e duração da resposta imune; modular a avidéz, a especificidade, o isótipo e a distribuição de subclasses de anticorpos; estimular a imunidade mediada por células; induzir imunidade de mucosas e aumentar a resposta imunológico em indivíduos imunologicamente imaturos ou senis⁹. Entretanto, parte desta resposta inflamatória induzida pelos adjuvantes pode ser destrutiva para os tecidos devido à ação do sistema imunitário hiperativado no tecido normal.

Alguns problemas são encontrados no desenvolvimento e uso de adjuvantes em vacinas humanas e veterinárias. A grande questão na utilização de adjuvantes em vacinas está na toxicidade e nos efeitos adversos de muitas formulações⁵.

Edelman lista um número de critérios que garantem a segurança de vacinas com adjuvantes¹⁰. Além de segurança com respeito às reações locais, reações sistêmicas (toxicidade geral, pirogênicidade), doenças auto-imunes, reações de hipersensibilidade, carcinogênicidade, teratogênese etc, um adjuvante ideal deve ser definido quimicamente de forma que possa ser fabricado constantemente. A preparação deve induzir uma resposta imunológica protetora a antígenos fracos com baixas doses de proteínas e com poucas aplicações. Deve ser efetivo em induzir uma resposta mais persistente e de alta qualidade, deve ser estável em consideração à sua capacidade adjuvante e à ausência de toxicidade não apresentando nenhuma interação com o antígeno.

O único adjuvante aprovado para uso em vacinas humanas é o hidróxido de alumínio, pois os padrões de segurança das vacinas são elevados e não permitem os efeitos colaterais dos adjuvantes

mais potentes. Os ISCOMs (complexos imunes estimuladores) são transportadores lipídicos que agem como adjuvantes (possuem toxicidade mínima) carregam os peptídeos e proteínas ao citoplasma e permitem respostas de células T (MHC classe I) aos peptídeos. Esses transportadores estão sendo considerados para uso na imunização humana¹¹.

Com as melhorias nas vacinas e o progresso nas técnicas de purificação de antígenos, há crescimento na necessidade de um adjuvante apropriado que efetivamente potencialize a resposta imune a antígenos fracos. Infelizmente, a absoluta segurança dos adjuvantes, na maioria das vezes, não pode ser garantida¹².

Muitos problemas são encontrados no desenvolvimento e utilização de adjuvantes em vacinas, principalmente em humanos. A escolha de um adjuvante para uma determinada vacina deve ser associada ao poder adjuvante desta substância e ao nível aceitável de efeitos adversos. Outro problema com o desenvolvimento de adjuvantes inclui a restrita capacidade adjuvante de certas formulações a pouco antígenos⁵.

Em muitas vacinas veterinárias são utilizadas substâncias adjuvantes como hidróxido de alumínio, saponina, avridine, entre outros, que conseguem amplificar a resposta inflamatória inicial induzida pela vacinação e aumentar a resposta imune a antígenos específicos^{13,14}.

O mecanismo de ação e a resposta inflamatória induzida pelos adjuvantes são, atualmente, pouco entendidos. Isto pode, inclusive, impedir o desenvolvimento de novos compostos. Nos processos de imunização deve haver, obrigatoriamente, uma resposta inflamatória, para que haja ativação dos mecanismos de imunidade específica (Linfócitos B e T). A imunização deve ser direcionada para este fim. Portanto, a adição de adjuvantes pode ativar vários mecanismos de ação da resposta imunológica, porém apenas alguns são relevantes para o estabelecimento de respostas antígeno-específica eficientes. O adjuvante mais apropriado para cada vacina depende amplamente do tipo de resposta imune necessária para o estabelecimento de imunidade protetora⁹. Desta forma, o estudo das características inflamatórias dos adjuvantes é importante na interpretação de sua capacidade de indução imunogênica e no entendimento dos efeitos colaterais associados ao seu uso.

Atualmente, as substâncias adjuvantes têm recebido muita atenção devido à sua habilidade de modular seletivamente a resposta imune humoral ou a celular^{7, 8, 15, 16}. Com o objetivo de se obter esta seletividade, os adjuvantes mais utilizados atualmente são o hidróxido de alumínio e o fosfato de alumínio, embora Fosfato de Cálcio e emulsões em óleo também sejam muito utilizados. Além do mais, durante os últimos 15 anos, obteve-se muito progresso no desenvolvimento, isolamento e síntese química de substâncias adjuvantes alternativas, como derivados de muramil dipeptídeo, monofosforil lipídeo A, lipossomos e complexos imunoestimulantes (ISCOMS)⁵, mas pouco se estudou sobre os efeitos destas substâncias na resposta imunológica inflamatória ao antígeno específico, principalmente a resposta celular, e como esta resposta pode auxiliar a performance da vacina, quanto à indução de uma resposta eficiente, desenvolvimento de uma resposta protetora, não indutora de hipersensibilidade e segura.

O objetivo, portanto, desta revisão foi o de prover dados sobre as características da resposta inflamatória e imunológica de diferentes adjuvantes que estão em uso ou deverão ser utilizados em vacinas para seres humanos ou animais nos próximos anos.

Método

Foi realizada no banco de dados MEDLINE[®] (<http://www.ncbi.nlm.gov>) e livros sobre o assunto. Uma revisão sistemática de estudos completos que objetivaram responder perguntas sobre a resposta inflamatória e imune e as características bioquímicas de adjuvantes vacinais. Trabalhos presentes neste endereço eletrônico desde 1969 foram consultados. Destes, vários trabalhos foram selecionados para descrição dos resultados obtidos. Para se selecionar estas referências os seguintes critérios foram utilizados: Seleção por perguntas associadas ao tema, seleção independente e sem viés de qualquer natureza de estudos completos e presença de informações claras e uniformes sobre o tema.

Resultados

Hidróxido de Alumínio

O Hidróxido de Alumínio é o único adjuvante

aprovado para uso em humanos. Esta substância tem sido largamente utilizada na prática de vacinas há algum tempo. É atualmente o único adjuvante autorizado para uso em humanos e é também utilizado em vacinas veterinárias. No Japão, o Hidróxido de Alumínio é utilizado em vacinas humanas como a do tétano; combinada de tétano e difteria; combinada de difteria purificada, tétano e hepatite B entre outras. Além do mais em vacinas veterinárias como a Newcastle, a Febre Efêmera, o Haemophilus e a Encefalite japonesa. Porém, muitos estudos têm evidenciado a neurotoxicidade de componentes de alumínio, relacionada a doenças como Alzheimer e encefalopatias¹².

Este adjuvante induz o aumento na migração macrofágica e neutrófila para o sítio de inoculação. Isto pode explicar o fato que dentre os efeitos colaterais do seu uso temos o eritema, nódulos subcutâneos, hipersensibilidade de contato e inflamação granulomatosa. Por outro lado, apresenta poucos ou nenhum sintoma sistêmico imediato, porém dados não publicados de Rezende e Lima mostraram que este adjuvante pode induzir alteração nas proporções de células T CD8+ (aumento após 24h da administração) e T CD4+ (aumento após 72h da administração). Podendo, portanto, ter sua capacidade de estimular resposta celular reduzida devido ao retardo na presença de linfócitos T CD4+ no sítio inflamatório¹⁷.

Goto *et al* mostraram que o Hidróxido de Alumínio induz um aumento da permeabilidade vascular associado a efeito tóxico sobre macrófagos¹². Além do mais não é eficaz com todos os antígenos, e estimula principalmente a imunidade humoral, sendo muito pobre a indução de resposta mediada por célula¹⁸. Outro dado importante foi publicado por Harris *et al* em 1996 que observaram redução na capacidade de indução de resposta citotóxica devido à inibição de acesso antigênico ao MHC de classe I¹⁹. Estes dados podem estar associados à observação de que há progressiva redução dos linfócitos T CD8+ no infiltrado após 72 horas de estimulação com este adjuvante.

Em relação ao estudo da indução de linfócitos B, há aumento significativo destas células após 24h do inóculo. Isto pode ser parcialmente associado às seguintes observações: 1- o Hidróxido de Alumínio induz, predominantemente, resposta imunológica do tipo Th2, associada à produção de interleucina (IL) 4 e anticorpos IgG1, IgE e

IgA secretado e induz a produção de citocinas IL-4, IL-5, IL-6, e IL-10²⁰; 2- tem sido utilizado em vacinas experimentais anti-HIV, aumentando a produção específica de anticorpos^{21, 22}. Isto pode refletir um “conflito de interesses” no sistema imunológico estimulado pela vacina e adjuvante. O adjuvante estimula células T, talvez mais predominantemente Th2²³, enquanto partículas não associadas ao adjuvante podem estimular outro tipo de resposta¹⁹. Este predomínio de resposta Th2 deve ser responsável pelas observações que o Hidróxido de Alumínio atrai eosinófilos para o local de inoculação da vacina, e estimula a produção de anticorpos IgE. Devido a isto tem sido sugerido que a utilização periódica de vacinas associadas a componentes de alumínio pode estar relacionada ao aumento da incidência de doenças alérgicas^{24, 25}.

Avridine®

Avridine® é um amido lipídico sintético. É adicionado à vacina previamente adsorvida por hidróxido de alumínio, acrescida de conservante a agente anti-espuma. Ao final, forma-se uma emulsão óleo em água²⁶. Avridine apresenta uma grande capacidade de indução de macrófagos e isto pode ser associado a uma maior eficiência em induzir resposta humoral, uma vez que, os macrófagos são as células que vão processar o antígeno e apresentar epitopos aos linfócitos, principais células na imunidade adquirida. O adjuvante Avridine mostra capacidade de estimulação dos níveis de anticorpos anti-rábicos e maior capacidade de indução de resposta imune humoral secundária contra o vírus rábico¹⁷.

Outros estudos têm demonstrado, por exemplo, um significativo aumento na resposta imunológica e proteção induzidos pela vacina anti-aftosa (FMDV) acrescida deste adjuvante. É capaz de induzir uma resposta imune duradoura relacionada a eficiente atividade das células apresentadoras de antígeno (APC). APC de animais imunizados com avridine como adjuvante induziram aumento na concentração de anticorpos neutralizantes. A indução de APC foi considerada como fator crítico no processo de aumento de imunogenicidade em vacina experimental FMDV²⁷.

O adjuvante Avridine induz uma proliferação linfocitária importante após 24 horas de administração compreendida pelas subpopulações T

CD4+ (auxiliar) e T CD8+ (citotóxico). Além de sua função citotóxica, as células T CD8 também secretam citocinas, que podem influenciar a resposta imune. A presença efetiva de linfócitos T CD4+ é crucial, pois são estas células que vão liberar várias citocinas que ativam macrófagos (IFN- γ e IL-12) aumentando a capacidade microbiana, de apresentação de antígenos destas células e produção de citocinas (IL-10, IL-4, IL-5 e IL-13) que irão aumentar a resposta inflamatória e podem induzir melhor capacidade de produção e liberação de anticorpos pelos linfócitos B CD19+. Grandes níveis de IFN- γ foram observados em grupos de camundongos vacinados e tratados com Avridine²⁸. A utilização de indutores de interferon associados à vacina anti-rábica foi descrita por Nunberg *et al*²⁹. Estudos evidenciaram que a vacina anti-rábica associada a Avridine, em bovinos, induz resposta mais persistente e de altos níveis de anticorpos primários do que vacinas associadas ao Hidróxido de Alumínio²⁸.

Além dos aspectos acima citados, Knudsen *et al* demonstraram a ação antiviral de Avridine³⁰. Anderson observou que esta substância induz aumento na atividade de linfócitos nos linfonodos locais³¹. Rweyemamu Weyemamu evidenciou que este adjuvante apresenta como propriedades principais o aumento da resposta linfoproliferativa, aumento de IgG1 e IgG2 (resposta humoral) e aumento de resposta celular²⁶. Em termos gerais, aumenta o nível e a duração da resposta imune. A utilização de Avridine tem mostrado aumento na resposta de IgA de mucosa, após a aplicação intraintestinal ou parenteral associado à toxina colérrica em camundongos³². Desta forma, podemos considerar a hipótese de que a ausência de linfócitos B induzidos por este adjuvante pode ser causada pela alta capacidade de transformação blástica destas células em plasmócitos (secretores de anticorpos). Esta última, por sua vez, não expressa CD19+, tende a predominar no linfonodo de drenagem e medula óssea de animais experimentais desafiados com um determinado antígeno indutor de resposta humoral.

Algamulin®

O Algamulin® é composto por gama inulina [β -D-(2 \rightarrow 1) polifrucofuranosil- ∞ -D-glicose linear, como partículas na configuração polimórfica gama, em geral composta de 50 a 75 subunidades] e

uma pequena porção de hidróxido de alumínio, suspensos em NaCl 0,8% e conservados com nitrato fenilmercúrico. Inulina é o carboidrato de reserva das plantas da família Compositae, e é extraído amplamente do caule de Dálías, principalmente no inverno, quando as cadeias de frutose são maiores³³. Sua principal propriedade é o aumento da resposta imunológica pela ligação dos antígenos aos receptores do complemento na superfície dos leucócitos. Partículas de gama inulina menores que 1 µm possuem maior atividade e menor reação local. Deve ser estocado entre 2 e 8 ° C. Pode ocorrer perda de atividade se o Algamulin for congelado. Nenhuma indicação de instabilidade foi encontrada até 40° C. Instável em pH inferior a 2 ou superior a 10. Praticamente insolúvel a 37°C. Não pirogênico, apresenta baixa toxicidade em experimentos com animais. Biodegradável a açúcares simples e gel de hidróxido de alumínio. A Inulina dissolvida é farmacologicamente inerte, e é registrada para uso em humanos⁷.

Algamulin (γ-inulina + alumínio) é um equivalente do Hidróxido de Alumínio, embora seu mecanismo de ação seja diferente³⁴. Além do mais, ele é um potente indutor de imunidade humoral e celular^{35, 36}, capaz de ativar a via alternativa do complemento³⁵. Entretanto, outras observações sugerem que Algamulin favorece a resposta tipo Th2¹⁹. Algamulin inoculado via intra peritoneal em camundongos ocasiona preferencialmente resposta humoral, enquanto que por via subcutânea ocasiona preferencialmente aumento da resposta mediada por células pelas vias Th1 e Th²⁸. Esta observação pode explicar a variação nos perfis celulares de linfócitos T e B observados em estudos de celularidade.

Beta Glucana

A β-Glucana é uma microcápsula de carboidrato altamente purificada, composta por duas cadeias laterais de glicose (β 1,3/β 1,6) ligadas à cadeia de glicose principal. É extraída principalmente a partir de paredes celulares de leveduras alimentares (*Saccharomyces cerevisiae*).

Em estudos de celularidade induzida por este adjuvante observamos uma dicotomia de resposta conforme a dose utilizada. Doses de 2 mg induziram mais alterações em células da imunidade

inespecífica. Este fato já havia sido percebido em estudos que observaram o fato que Beta Glucana age como um estimulante não específico do sistema imunológico³⁷. Este adjuvante interage com receptores, que são identificados como receptores de componentes da via do complemento, específicos em monócitos e neutrófilos humanos. Estudos mostram que Beta Glucana ativa efetivamente macrófagos e neutrófilos resultando no aumento de citocinas como, IL-1α, IL-1β, IL-6 e TNF e fatores estimuladores de colônia como, GM-CSF. Ao contrário da maioria dos adjuvantes à base de óleo ou detergente, a Beta Glucana em base salina não causa efeitos locais como, a formação de granulomas no local da injeção, e a efetividade na estimulação de títulos de anticorpos está bem estabelecida em várias espécies animais. Esta combinação de eficácia e segurança do Beta Glucana proporciona a busca de sua utilização como adjuvante e como veículo entregador de drogas para uso humano e veterinário³⁸.

Em aparente contradição, observam-se diferenças na mobilização celular entre diferentes concentrações do produto, sem uma explicação satisfatória para a observação. Como já mencionado, a atividade de Beta-Glucana consiste na ligação a β-receptores específicos e ativação da cascata de respostas imunológicas que promovem a produção de títulos mais elevados de anticorpos séricos para antígenos específicos. Preferencialmente induz altos títulos de anticorpos e reduz a resposta citotóxica¹⁹. Potencializa a resposta celular e humoral a um grupo diverso de antígenos tumorais, conferindo também resistência não específica a doenças neoplásicas, bacterianas e fúngicas. A Beta Glucana de origem fúngica tem sido descrita como candidata promissora para a prevenção ou a terapia de lepra experimental³⁹, candidíase⁴⁰, leishmaniose⁴¹, malária⁴², toxoplasmose⁴³ e inúmeras outras doenças. Nenhum anticorpo é produzido contra a Beta Glucana. Quando co-administrada com soro albumina bovina aumenta em 1000 vezes os títulos de anticorpos em ratos em comparação com o antígeno sozinho. A Beta Glucana estimula títulos de anticorpos equivalentes ao Adjuvante Completo de Freund sem a toxicidade e histopatologia associadas ao seu uso. Estudos sugerem que o uso deste adjuvante, seguro, poderá inovar as vacinas de nova geração³⁸.

SEPPIC®

SEPPIC-I® E SEPPIC-II® são formulações adjuvantes novas, não oleosas, produzidas pela empresa SEPPIC (Paris, França) cujas formulações são consideradas segredos industriais.

SEPPIC-I, SEPPIC-II são indutores de macrófago e devido a isto podem ser associados à capacidade de indução de resposta imune adaptativa. SEPPIC-I demonstra maior capacidade de indução de resposta imune humoral secundária contra o vírus rábico. SEPPIC MONTANIDE ISA 720 é um adjuvante muito utilizado em vacina recombinante contra Malária, promovendo como resultado, aumento nos níveis de anticorpos em camundongos, coelhos e ovelhas. Este adjuvante também tem se mostrado promissor no desenvolvimento de uma resposta imune por linfócitos T. Os adjuvantes SEPPIC-I e SEPPIC-II não induzem este tipo de resposta. A injeção do adjuvante SEPPIC MONTANIDE ISA 720 associado à vacina anti-malária têm mostrado diminuição do desconforto, da dor, do edema local e aparentemente não causa seqüelas⁴⁴, este dado pode ser associado ao pequeno número de neutrófilos observado em estudos com o adjuvante SEPPIC-I e II, significando então a pouca indução inflamatória destes adjuvantes e provável menor lesão tecidual induzida no sítio inflamatório.

Conclusões

A resposta imune de seres humanos ou de animais pode ser modulada pelos diferentes adjuvantes com o objetivo de determinar respostas imunes específicas eficientes direcionadas ao antígeno ou microorganismo ao qual ele será associado. Estas respostas podem ser moduladas de tal forma que haja aumento da eficiência vacinal e redução, em situações particulares, do desenvolvimento de mecanismos causadores de morbidade ou mortalidade pós-vacinal. Assim se faz necessários para o alergista e imunologista clínico o estudo de cada adjuvante a ser utilizado em cada situação e a necessidade de se encontrar uma substância que seja efetiva frente a grande número de antígenos e que diminuam, possíveis seqüelas.

Agradecimentos: A Srta. Renata da Silva pelo suporte técnico durante o desenvolvimento deste trabalho.

Referências bibliográficas

1. Kaeberle ML. Function of carriers and adjuvants in induction of immune responses. In: Kaeberle ML, Nervig RM, Gough PM, eds *Advances in Carriers and adjuvants for veterinary biologics*. New York: University press; 1986. p.12.
2. Gupta RK, Relyveld EH, Lindblad EB, Bizzini B, Ben-Efraim S, Gupta CK. Adjuvants--a balance between toxicity and adjuvanticity. *Vaccine*. 1993; 11:293-306.
3. Chin J, San Gil F. Skin delivery of a hybrid liposome/ISCOM vaccine implicates a role for adjuvants in rapid modulation of inflammatory cells involved in innate immunity before the enhancement of adaptive immune responses. *Immunol Cell Biol*. 1998;76:245-55.
4. Rush BR, Flaminio MJ. Immunomodulation in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2000;16: 183-97.
5. Gupta RK, Siber GR. Adjuvants for human vaccines--current status, problems and future prospects. *Vaccine*. 1995;13:1263-76.
6. Takahashi H, Takeshita T, Morein B, Putney S, Germain RN, Berzofsky JA. Induction of CD8+ cytotoxic T cells by immunization with purified HIV-1 envelope protein in ISCOMs. *Nature*. 1990;344:873-5.
7. Cooper PD, Gust ID, Steele EJ, Leslie DE. Comparative adjuvant action of gamma insulin and alum. *Immunol Cell Biol*. 1991;69 (Pt 1):57.
8. Spriggs DR, Koff WC. *Topics in vaccine adjuvant research* Boca Raton, FL: CRC press; 1991.
9. Singh M, O'Hagan D. *Advances in vaccine adjuvants*. *Nat Biotechnol*. 1999;17:1075-81.
10. Edelman R. Vaccine adjuvants. *Rev Infect Dis*. 1980;2:370-83.
11. Hawkins DL, MacKay RJ, Gum GG, Colahan PT, Meyer JC. Effects of intra-articularly administered endotoxin on clinical signs of disease and synovial fluid tumor necrosis factor, interleukin 6, and prostaglandin E2 values in horses. *Am J Vet Res*. 1993;54:379-86.
12. Goto N, Kato H, Maeyama J, Eto K, Yoshihara S. Studies on the toxicities of aluminium hydroxide and calcium phosphate as immunological adjuvants for vaccines. *Vaccine*. 1993;11:914-8.
13. Afonso LC, Scharton TM, Vieira LQ, Wysocka M, Trinchieri G, Scott P. The adjuvant effect of interleukin-12 in a vaccine against *Leishmania major*. *Science*. 1994;263:235-7.
14. Preto AA, Fernandes MJ, Hayashi Y, Germano PML, Burer SP. Preparação da vacina anti-rábica PV/BHK em emulsão oleosa e avaliação do poder

- imunogênico em bovinos. *Arq. biol. tecnol.* 1991; 34:609-16.
15. Golding B, Burger DR, Rittenberg MB. Lectin-induced regulation of human thymus-independent anti-TNP responses in vitro. *J Immunol.* 1982; 129:942-5.
 16. Audibert FM, Lise LD. Adjuvants: current status, clinical perspectives and future prospects. *Immunol Today.* 1993;14:281-4.
 17. Rezende FCB. Estudo da cinética do infiltrado celular inflamatório induzido por adjuvantes de vacinas em bolhas de ar formadas no subcutâneo de camundongos (Dissertação de Mestrado). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2003.
 18. Schirmbeck R, Melber K, Kuhrober A, Janowicz ZA, Reimann J. Immunization with soluble hepatitis B virus surface protein elicits murine H-2 class I-restricted CD8+ cytotoxic T lymphocyte responses in vivo. *J Immunol.* 1994;152:1110-9.
 19. Harris SJ, Woodrow SA, Gearing AJ, Adams SE, Kingsman AJ, Layton GT. The effects of adjuvants on CTL induction by V3:Ty-virus-like particles (V3-VLPs) in mice. *Vaccine.* 1996;14: 971-6.
 20. Mosmann TR, Coffman RL. Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper T cells. *Adv Immunol.* 1989;46:111-47.
 21. Powell MF, Eastman DJ, Lim A, Lucas C, Peterson M, Vennari J, et al. Effect of adjuvants on immunogenicity of MN recombinant glycoprotein 120 in guinea pigs. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1995;11:203-9.
 22. Hart MK, Palker TJ, Matthews TJ, Langlois AJ, Lerche NW, Martin ME, et al. Synthetic peptides containing T and B cell epitopes from human immunodeficiency virus envelope gp120 induce anti-HIV proliferative responses and high titers of neutralizing antibodies in rhesus monkeys. *J Immunol.* 1990;145:2677-85.
 23. Harris SJ, Gearing AJ, Layton GT, Adams SE, Kingsman AJ. Enhanced proliferative cellular responses to HIV-1 V3 peptide and gp120 following immunization with V3:Ty virus-like particles. *Immunology.* 1992;77:315-21.
 24. Cogne M, Ballet JJ, Schmitt C, Bizzini B. Total and IgE antibody levels following booster immunization with aluminum absorbed and nonabsorbed tetanus toxoid in humans. *Ann Allergy.* 1985; 54:148-51.
 25. Kishimoto T, Ishizaka K. Regulation of antibody response in vitro. VII. Enhancing soluble factors for IgG and IgE antibody response. *J Immunol.* 1973;111:1194-205.
 26. Rweyemamu MM, Umehara O, de Lucca-Neto D, Baltazar MC, Vicente FE, Medeiros-Neto Rda R. Efficacy of avridine as an adjuvant for Newcastle disease virus antigen in chickens. *Am J Vet Res.* 1986;47:1243-8.
 27. Wigdorovitz A, Zamorano P, Borca MV, Sadir AM. Modulation of the antigen presentation activity in foot and mouth disease virus (FMDV) vaccines by two adjuvants: avridine and a water soluble fraction of *Mycobacterium* sp. *Vaccine.* 1998; 16:1627-32.
 28. Megid J, Peracoli MT, Curi PR, Zanetti CR, Cabrera WH, Vassao R, et al. Effect of the bacillus of Calmette-Guerin, *Propionibacter acnes* and avridine as immunomodulators in antirabies vaccination of mice using the Fuenzalida-Palacios mouse brain vaccine. *Vaccine.* 1999;17:2446-52.
 29. Nunberg JH, Doyle MV, York SM, York CJ. Interleukin 2 acts as an adjuvant to increase the potency of inactivated rabies virus vaccine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86:4240-3.
 30. Knudsen RC, Card DM, Hoffman WW. Protection of guinea pigs against local and systemic foot-and-mouth disease after administration of synthetic lipid amine (Avridine) liposomes. *Antiviral Res.* 1986;6:123-33.
 31. Anderson AO, Wood OL, King AD, Stephenson EH. Studies on anti-viral mucosal immunity with the lipoidal amine adjuvant avridine. *Adv Exp Med Biol.* 1987;216B:1781-90.
 32. Rehmani SF, Spradbrow PB. The influence of adjuvants on oral vaccination of chickens against Newcastle disease. *Vet Microbiol.* 1995;46:63-8.
 33. Cooper PD. Vaccine adjuvants based on gamma inulin. *Pharm Biotechnol.* 1995;6:559-80.
 34. Leslie DE, Nicholson S, Dimitrakakis M, Johnston N, Gust ID. Humoral immune responses in mice using gamma inulin preparations as adjuvants for hepatitis B vaccines. *Immunol Cell Biol.* 1990;68:107-12.
 35. Cooper PD, Steele EJ. The adjuvanticity of gamma inulin. *Immunol Cell Biol.* 1988;66:345-52.
 36. Deol HS, Palmer DG, Dunsmore T, Carnegie PR. The influence of gamma inulin and Algammulin on the immune response in sheep to a recombinant antigen of *Taenia ovis*. *Vaccine.* 1995;13:429-33.
 37. Cross GG, Jennings HJ, Whitfield DM, Penney CL, Zacharie B, Gagnon L. Immunostimulant oxidized beta-glucan conjugates. *Int Immunopharmacol.* 2001;1:539-50.
 38. Ostroff GR, Easson J, Jamas S. A new beta-glucan-based macrophage-target adjuvant. *Polymeric drugs and drugs delivery systems.* Worcester, MA: Alpha-Beta technology; 1991. p.52-9.

39. Delville J, Jacques PJ. Therapeutic effect of yeast glucan in mice infected with *Mycobacterium leprae* [proceedings]. Arch Int Physiol Biochim. 1977;85:965-6.
40. Williams DL, Cook JA, Hoffmann EO, Di Luzio NR. Protective effect of glucan in experimentally induced candidiasis. J Reticuloendothel Soc. 1978; 23:479-490.
41. Cook JA, Holbrook TW, Parker BW. Visceral leishmaniasis in mice: protective effect of glucan. J Reticuloendothel Soc. 1980;27:567-73.
42. Gillet J, Jacques PJ, Herman F. Particulate beta 1-3 glucan and casual prophylaxis of mouse malaria (*Plasmodium berghei*). Adv Exp Med Biol. 1979; 121:307-13.
43. Nguyen BT, Stadtsbaeder S. Comparative biological and antitoxoplasmic effects of particulate and water-soluble polysaccharides, in vitro. Adv Exp Med Biol. 1979;121:255-68.
44. Lawrence GW, Saul A, Giddy AJ, Kemp R, Pye D. Phase I trial in humans of an oil-based adjuvant SEPPIC MONTANIDE ISA 720. Vaccine. 1997; 15:176-8.

Endereço para correspondência

Prof. Dr. Hermênio C. Lima
Centro de Genética Molecular e Pesquisa do
Câncer em Criança (CEGEMPAC)
Rua Agostinho Leão Júnior, 400
80060-110 - Curitiba - PR - Brasil
Tel/Fax.: 0XX-41-3029.3204
E-mail: hclima@ufpr.br
fabirrez@pop.com.br