

Carla Rezende Barbosa Bonin

**Modelagem matemático-computacional da resposta imune à vacina de febre  
amarela**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Modelagem Computacional.

Orientador: Prof. D.Sc. Marcelo Lobosco

Coorientador: Prof. D.Sc. Rodrigo Weber dos Santos

Coorientador: Prof. D.Sc. Guilherme Côrtes Fernandes

Juiz de Fora

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Bonin, Carla Rezende Barbosa.

Modelagem matemático-computacional da resposta imune à vacina de febre amarela / Carla Rezende Barbosa Bonin. -- 2015.

88 p.

Orientador: Marcelo Lobosco

Coorientador: Rodrigo Weber dos Santos

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, ICE/Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Modelagem Computacional, 2015.

1. Vacina. 2. Febre amarela. 3. Modelagem matemática. 4. Modelagem computacional. 5. Sistema imune. I. Lobosco, Marcelo, orient. II. Santos, Rodrigo Weber dos, coorient. III. Título.

Carla Rezende Barbosa Bonin

**Modelagem matemático-computacional da resposta imune à vacina de febre  
amarela**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Modelagem Computacional.

Aprovada em 26 de Fevereiro de 2015.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. D.Sc. Marcelo Lobosco - Orientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Prof. D.Sc. Rodrigo Weber dos Santos - Coorientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Prof. D.Sc. Guilherme Côrtes Fernandes  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Prof. D.Sc. Sergio Alonso Muñoz  
Universitat Politècnica de Catalunya

---

Prof. D.Sc. Luiz Antonio Bastos Camacho  
Fundação Oswaldo Cruz

---

Prof. D.Sc. Flávia de Souza Bastos  
Universidade Federal de Juiz de Fora



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela oportunidade de estar neste mundo e de aprender a cada dia. Aos meus pais pela concepção da vida, em especial a minha mãe que em todos os momentos esteve ao meu lado me apoiando, aconselhando e ajudando até mesmo nos gestos mais simples. Gostaria de agradecer também aos meus mestres Lobosco, Rodrigo e Guilherme por todos os ensinamentos. Um agradecimento especial aos amigos do PGMC afinal, eles tiveram a capacidade de transformar meus dias difíceis em dias tranquilos, minha fome em banquete e minhas lágrimas em gargalhadas. Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer a ele, o amor da minha vida, meu noivo, o homem que há 10 anos foi colocado na minha vida pelas mãos de Deus. Você, Gustavo, veio para me ajudar a crescer e evoluir. Ao seu lado eu descobri que posso ser muito melhor, que sou capaz de muito mais.

*“Não sei o que possa parecer aos olhos do mundo, mas aos meus parece apenas ter sido como um menino brincando à beira-mar, divertindo-me com o fato de encontrar de vez em quando um seixo mais liso ou uma concha mais bonita que o normal, enquanto o grande oceano da verdade permanece completamente por descobrir à minha frente.”*

*(Isaac Newton)*

## RESUMO

Desde 1937 está disponível uma vacina eficaz contra febre amarela. Ainda assim, questões relativas a seu uso permanecem pouco entendidas, como, por exemplo, a necessidade da dose reforço a cada dez anos. O objetivo deste trabalho é demonstrar que ferramentas matemático-computacionais podem ser utilizadas para simular diferentes cenários referentes à vacinação e aos indivíduos a fim de auxiliar a busca pelas respostas de algumas destas questões em aberto. Neste contexto, este trabalho apresenta um modelo matemático-computacional da resposta imune humana à vacinação contra febre amarela. O modelo leva em conta importantes células dos sistemas inato e adaptativo, como células apresentadoras de antígeno, anticorpos, células B e células T (CD4+ e CD8+). Também são consideradas populações de células de memória, importantes na aquisição da imunidade conferida pela vacina. O modelo foi capaz de gerar curvas de anticorpos que estão de acordo com dados experimentais, além de representar o comportamento de diversas populações importantes do sistema imune de acordo com o que é esperado pela literatura. Este é o início de um caminho que, em um cenário ideal, permitirá simular diferentes situações relacionadas ao emprego da vacina contra febre amarela, como sua aplicação em indivíduos com imunodeficiências, diferentes estratégias de vacinação, duração da imunidade e necessidade de dose reforço.

**Palavras-chave:** Vacina. Febre amarela. Modelagem matemática. Modelagem Computacional. Sistema imune. Equações diferenciais ordinárias.

## ABSTRACT

An effective vaccine against yellow fever is available since 1937, but some issues regarding its use remain poorly understood, for example, the need for a booster dose every ten years. The objective of this study is to demonstrate that mathematical-computational tools can be used to simulate distinct scenarios related both to vaccination and individuals in order to assist the search for the answers to some of these open issues. In this context, this study presents a mathematical-computational model of the human immune response to vaccination against yellow fever. The model takes into account important cells of the innate and adaptive systems, such as antigen presenting cells, antibodies, B cells and T cells (CD4 + and CD8 +). Memory cell populations, important on the immunity induced by a vaccine, were also considered in the model. The model was able to generate antibodies curves which are in accordance with experimental data as well as to represent the behavior of several important populations of the immune system according to the results of the literature surveyed. This is the first step towards an ideal scenario where it will be possible to simulate distinct situations related to the use of yellow fever vaccine, as its application in immunodeficient individuals, different vaccination strategies, duration of immunity and the need for a booster dose.

**Keywords:** Vaccine. Yellow fever. Mathematical modeling. Computational modeling. Immune system. Ordinary Differential Equations.



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Revisão Bibliográfica .....	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	19
2.1	Sistema imune humano .....	19
2.1.1	<i>Principais células do SIH</i> .....	21
2.2	Febre Amarela .....	26
2.2.1	<i>Aspectos Clínicos</i> .....	26
2.2.2	<i>Aspectos epidemiológicos</i> .....	27
2.2.3	<i>Vacina contra FA</i> .....	30
3	MODELO MATEMÁTICO-COMPUTACIONAL.....	32
3.1	Detalhamento do modelo .....	38
3.2	Modelo completo .....	45
3.3	Funções usadas no modelo .....	48
3.4	Implementação e ambiente computacional .....	50
3.4.1	<i>Métodos BDF</i> .....	51
3.4.2	<i>Métodos de Adams</i> .....	53
4	RESULTADOS .....	55
4.1	Primeira vacinação .....	55
4.2	Revacinação .....	65
4.3	Análise de sensibilidade .....	72
5	CONCLUSÕES .....	84

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

2.1	Órgãos do SIH. Adaptado de Murphy <i>et al.</i> (2008) . . . . .	20
2.2	Processo de fagocitose. Adaptado de Murphy <i>et al.</i> (2008) . . . . .	23
2.3	Representação simplificada de uma molécula de anticorpo. Adaptado de Murphy <i>et al.</i> (2008) . . . . .	24
2.4	Processo de infecção e combate a um invasor. Adaptado de Murphy <i>et al.</i> (2008)	26
2.5	Mapas de risco de infecção pelo vírus da FA na América do Sul (a) e na África (b). Adaptado de Jentes <i>et al.</i> (2011) . . . . .	29
3.1	Esquema de ativação e diferenciação das células B. . . . .	34
3.2	Esquema da interação entre as populações consideradas no modelo. Adaptado de Lee <i>et al.</i> (2009) . . . . .	35
4.1	Curva de anticorpos gerada pelo modelo e dados experimentais extraídos de Kay <i>et al.</i> (2011) . . . . .	56
4.2	A curva de viremia exhibe resultados compatíveis com dados qualitativos encontrados em Monath <i>et al.</i> (2013) . . . . .	57
4.3	Curva de anticorpos gerada pelo modelo e dados experimentais extraídos de Collaborative group (2014). Para cada ponto experimental também são mostrados o menor e o maior valor encontrados para o nível de anticorpos, além do início e do fim do intervalo de tempo . . . . .	58
4.4	Curva de anticorpos gerada pela simulação de 5000 dias do modelo e dados experimentais extraídos de Kay <i>et al.</i> (2011)(▲) e Collaborative group (2014) (●) . . . . .	59
4.5	Curva de anticorpos gerada pela simulação de 50 dias do modelo. Dados experimentais extraídos de Kay <i>et al.</i> (2011)(▲) e Collaborative group (2014) (●) . . . . .	60
4.6	Curvas de células do local de inoculação do vírus vacinal . . . . .	61
4.7	Curva de APCs maduras . . . . .	62
4.8	Curva de células T CD4+ ( <i>helper</i> ) . . . . .	63
4.9	Curva de células T CD8+ ( <i>killer</i> ) . . . . .	63

4.10	Curvas de células B ativas e de memória . . . . .	64
4.11	Curvas de células do plasma . . . . .	65
4.12	Curva de anticorpos gerada pela simulação de 5000 dias do modelo . . . . .	66
4.13	Curva de viremia após a segunda dose da vacina . . . . .	67
4.14	Curvas de viremia a) 15 dias após a primeira vacinação b) 15 dias após a revacinação . . . . .	67
4.15	Curva de células do local de inoculação do vírus . . . . .	68
4.16	Curva de células T CD4+ ( <i>helper</i> ) . . . . .	69
4.17	Curva de células T CD8+ ( <i>killer</i> ) . . . . .	70
4.18	Curvas de células B . . . . .	71
4.19	Curvas de células do plasma . . . . .	72
4.20	Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de $\delta_{B_A}$ (taxa de morte das células B ativas) . . . . .	73
4.21	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de $\delta_{B_A}$ (taxa de morte das células B ativas) . . . . .	74
4.22	Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de $\pi_S$ (taxa de diferenciação das células B ativas em células do plasma de vida curta) . . .	75
4.23	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de $\pi_S$ (taxa de diferenciação das células B ativas em células do plasma de vida curta) .	75
4.24	Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de $\delta_S$ (taxa de morte das células do plasma de vida curta) . . . . .	76
4.25	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de $\delta_S$ (taxa de morte das células do plasma de vida curta) . . . . .	77
4.26	Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de $\pi_{AS}$ (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida curta) . .	78
4.27	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de $\pi_{AS}$ (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida curta)	78
4.28	Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de $\pi_{AL}$ (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida longa) . .	79
4.29	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de $\pi_{AL}$ (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida longa)	79

4.30	Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de $\delta_{LN}$ (taxa de homeostase das células do local não infectadas) . . . . .	80
4.31	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de $\delta_{LN}$ (taxa de homeostase das células do local não infectadas) . . . . .	81
4.32	Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de $h$ . . . . .	82
4.33	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de $h$ . . . . .	82

## LISTA DE TABELAS

2.1	Representação gráfica de algumas células do SIH. Adaptado de Murphy <i>et al.</i> (2008) . . . . .	22
3.1	Variáveis do modelo e valores iniciais . . . . .	36
3.2	Parâmetros do modelo . . . . .	37
3.3	Parâmetros das funções usadas no modelo . . . . .	50
4.1	Dados experimentais extraídos de Kay <i>et al.</i> (2011) . . . . .	56
4.2	Dados experimentais extraídos de Collaborative group (2014) . . . . .	58

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

FA	Febre Amarela
SIH	Sistema Imune Humano
HB	Hepatite B
APCs	<i>Antigen Presenting Cells</i>
YFV-AND	<i>Yellow Fever vaccine-associated neurologic disease</i>
YFV-AVD	<i>Yellow Fever vaccine-associated viscerotropic disease</i>
Ig	Imunoglobulina
OMS	Organização Mundial da Saúde
EDOs	Equações Diferenciais Ordinárias
PRNT	<i>Plaque-Reduction Neutralization Test</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EDPs	Equações Diferenciais Parciais
GMT	<i>Geometric Mean Titres</i>

# 1 INTRODUÇÃO

Segundo estudos feitos na década de 90 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 200.000 casos de febre amarela (FA) são esperados anualmente causando cerca de 30.000 mortes, ocorrendo principalmente na África e na América do Sul (OMS, 2013). Uma vacina eficaz contra a FA já está disponível desde 1937 (Theiler and Smith, 1937), mas algumas questões relativas a seu uso ainda permanecem pouco entendidas. Até 2012, a OMS recomendava a administração de uma dose reforço da vacina a cada dez anos, mas em 2013 essa recomendação foi suspensa (OMS, 2013) baseada em estudos que mostraram indivíduos vacinados que mantinham níveis de anticorpos considerados protetores mesmo após os dez anos (Poland *et al.*, 1981; Gotuzzo E., 2014; Staples *et al.*, 2010). Outra questão ainda em aberto é a ocorrência de eventos adversos associados à vacinação contra FA. Existem dois principais tipos: eventos associados à doenças neurológicas (YFV-AND, do inglês *Yellow Fever vaccine-associated neurologic disease*) e associados à doenças viscerotrópicas (YFV-AVD, do inglês *Yellow Fever vaccine-associated viscerotropic disease*). As taxas de ocorrência são de 0,25 a 0,8 por 100.000 doses de vacina para YFV-AND e de 0,25 a 0,4 por 100.000 doses para YFV-AVD (OMS, 2013). Entendendo que a imunogenicidade e segurança da vacina estão relacionadas tanto às questões da imunidade do indivíduo quanto às características do vírus vacinal, acredita-se que ainda há pendências no entendimento de algumas questões relativas ao uso e funcionamento da vacina, apesar dos estudos clínicos já realizados.

Neste cenário, a modelagem matemática e computacional do sistema imune humano (SIH) se apresenta como uma possível ferramenta na busca pelas respostas de algumas destas questões em aberto. O objetivo deste trabalho é demonstrar que ferramentas matemático-computacionais podem ser utilizadas para simular a resposta imune de um indivíduo à vacina de FA. No cenário ideal, um modelo bem ajustado possibilitaria acompanhar o comportamento do SIH a fim de auxiliar na compreensão de alguns mecanismos relacionados ao seu funcionamento, direcionando as pesquisas *in vivo* ou

*in vitro*. Tendo ao menos uma direção, muitos recursos, financeiros ou não, poderiam ser poupados.

Neste trabalho será apresentada a concepção de um modelo matemático-computacional da resposta imune à vacinação por inoculação subcutânea do vírus atenuado da FA. O modelo considera as principais populações de células e moléculas do SIH importantes no processo de aquisição da memória imunológica, como células apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês *Antigen Presenting Cells*), células B e T, o vírus vacinal e os anticorpos, sendo que estes são considerados o principal elemento na proteção do indivíduo contra uma segunda exposição ao mesmo vírus. Este trabalho foi baseado em um trabalho anterior realizado por Lee *et al.* (2009) que reproduz a resposta imune à infecção natural pela mucosa das vias aéreas por vírus da influenza A.

O trabalho será dividido da seguinte maneira: a seção 1.1 apresentará uma revisão bibliográfica dos trabalhos relacionados. O capítulo 2 irá explicar um pouco do funcionamento do SIH, bem como as últimas recomendações da OMS sobre a administração da vacina. No capítulo 3 serão tratados aspectos sobre a implementação de um algoritmo para a resolução do sistema de Equações Diferenciais Ordinárias (EDOs), bem como os métodos numéricos usados por este algoritmo. Será apresentado também o modelo com todos os seus detalhes e as explicações necessárias. O capítulo 4 será dedicado a apresentar e discutir os resultados obtidos e por fim o capítulo 5 mostrará as conclusões deste trabalho e visões para os trabalhos futuros.

## 1.1 Revisão Bibliográfica

Esta seção apresenta a revisão bibliográfica de alguns trabalhos relacionados. Eles foram assim considerados por utilizarem a modelagem matemática e/ou computacional para reproduzir fenômenos biológicos, como o comportamento do SIH frente a outras doenças, ou a modelagem relacionada à FA de alguma outra forma, como por exemplo os que modelam a parte epidemiológica da doença. Apenas um trabalho sobre modelagem matemática da resposta imune à vacinação de FA foi encontrado e também será revisado.

O trabalho de Lee *et al.* (2009), que foi usado como base para a construção do



modelo apresentado neste trabalho, usa a modelagem matemática para reproduzir o comportamento do SIH frente a uma infecção pelo vírus da influenza A. Ele foi usado pois considera vários dos componentes do SIH que também são importantes para a modelagem da FA, visto que a vacina para esta doença é feita utilizando o vírus vivo, porém atenuado. O modelo original é composto por 15 EDOs que representam: células epiteliais infectadas e não infectadas, vírus, células dendríticas (imaturas, carregadas de antígeno e maduras), células T CD4+, T CD8+, ambas virgens e efectoras, células B virgens e ativas, células do plasma (células secretadoras de anticorpos) de vida curta e vida longa e anticorpos. Este modelo é dividido em dois compartimentos: um referente ao compartimento linfático e o outro ao tecido (o tecido considerado foi o do pulmão). Como será explicado mais adiante, sentiu-se a necessidade de fazer algumas modificações no modelo a fim de ajustá-lo aos dados experimentais obtidos na literatura e torná-lo mais detalhado e realista.

O trabalho de Wilson *et al.* (2007) também usa a modelagem matemática através de EDOs para simular a resposta dos anticorpos para a vacinação contra hepatite B (HB). O modelo é composto por 3 equações que representam o antígeno vacinal circulante, o nível de anticorpos anti-HB e a memória imune. O objetivo do modelo é avaliar as diferentes respostas encontradas quando diferentes doses e esquemas de vacinação são empregados.

Alguns dos trabalhos encontrados sobre FA e que estão relacionados com modelagem se referem à parte epidemiológica da doença. O trabalho de Cannon and Galiffa (2012) apresenta um modelo epidemiológico de reação-difusão não linear baseado em equações diferenciais parciais (EDPs), enquanto que o trabalho de Massad *et al.* (2003) apresenta um modelo matemático capaz de estimar o risco de uma epidemia de FA urbana em uma área infestada por *Aedes aegypti*.

O trabalho de Le *et al.* (2015) é o que se mostrou estar mais relacionado com o que foi proposto neste trabalho. Ele apresenta uma modelagem matemática usando EDOs da resposta imune humana à vacinação, tanto de FA quanto de varíola. O modelo é dividido em dois compartimentos: um referente à circulação e outro aos órgãos linfoides secundários. As equações representam o vírus vacinal, os anticorpos, as células do plasma de vida longa, as células secretadoras de anticorpos e as células T CD8+, tanto nos órgãos

linfoides secundários (como o baço) quanto na circulação. O objetivo do trabalho de Le *et al.* (2015) é avaliar apenas a dinâmica das células T CD8+ e não a resposta imune como um todo. O modelo proposto neste trabalho considera as populações importantes em cada etapa da resposta imune à vacinação contra FA, desde a inoculação do vírus, passando pela ativação dos linfócitos até chegar na geração dos anticorpos e das células de memória.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este capítulo visa dar uma visão geral sobre o funcionamento e alguns mecanismos do SIH, além de informações e dados relevantes sobre a FA e a sua vacina. Os conceitos apresentados aqui serão importantes para o entendimento do modelo matemático, que será apresentado posteriormente, e foram baseados em referências clássicas de imunologia (Sompayrac, 2008; Murphy *et al.*, 2008).

### 2.1 Sistema imune humano

O SIH é uma complexa rede de órgãos, células, moléculas, proteínas e outros componentes que têm a função de defender o organismo contra a invasão de agentes externos causadores de doenças chamados de antígenos, podendo ser vírus, bactérias, fungos, protozoários ou substâncias tóxicas, como venenos de animais. O SIH funciona como um exército que utiliza diferentes armas para combater seus inimigos. Todo o processo de detecção e combate do antígeno é chamado de resposta imune. A Figura 2.1 mostra os principais órgãos que compõem o SIH. Em amarelo podemos ver os órgãos primários e em azul os secundários. Os primários representam os locais onde ocorrem as principais fases de amadurecimento dos linfócitos. O timo e a medula óssea são considerados órgãos primários, neles ocorre o amadurecimento dos linfócitos T e B, respectivamente. Os tecidos linfoides secundários são os que efetivamente participam da resposta imune, seja ela humoral ou celular. Como exemplos pode-se citar linfonodos, tonsilas, baço e adenoide. As células presentes nesses tecidos tiveram origem nos órgãos linfoides primários, migraram pela circulação e atingiram o tecido.

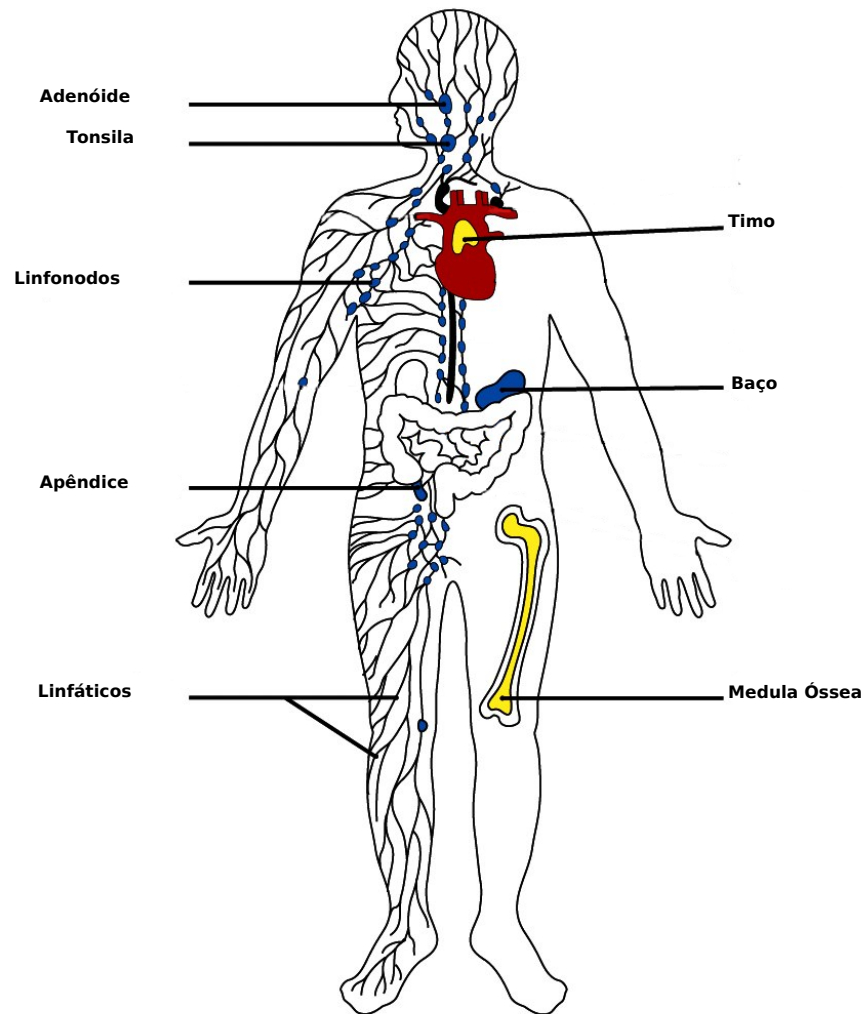


Figura 2.1: Órgãos do SIH. Adaptado de Murphy *et al.* (2008)

As primeiras barreiras do corpo são barreiras físicas, como a pele e as mucosas dos tratores respiratório, digestivo e reprodutor. Quando esta barreira é rompida, existem outras duas capazes de reconhecer e combater o antígeno invasor. A segunda barreira do corpo é o SIH inato, que fornece uma resposta rápida porém inespecífica através, principalmente, dos fagócitos, assim chamados por realizarem um processo chamado fagocitose, que será explicado mais adiante. Pertencem a este grupo as células dendríticas, os macrófagos e os granulócitos, sendo que estes últimos compreendem as células sanguíneas brancas conhecidas como neutrófilos, basófilos e eosinófilos, que atuam de maneira semelhante, independente do invasor. Este sistema está presente na maioria dos

animais e funciona desde o nascimento do indivíduo, sem a necessidade de que haja um contato prévio com algum invasor.

A terceira barreira do corpo é o SIH adaptativo, assim chamado por adaptar-se a responder a qualquer tipo de invasor. É caracterizado pela produção de anticorpos e pelo desenvolvimento da memória imunológica, sendo esta a responsável por gerar uma resposta mais rápida, intensa e específica num próximo contato com o mesmo antígeno. Suas principais células são os linfócitos, capazes de reconhecer um patógeno e produzir uma resposta eficiente contra ele.

Sompayrac (2008) faz uma analogia que ajuda muito na compreensão das diferenças entre os sistemas inato e adaptativo. Imagine que você está em uma cidade e tem seus sapatos roubados. Próximo a você existe uma loja que fabrica sapatos sob medida, porém estes demoram duas semanas para ficarem prontos. Mas você está descalço e precisa de algo para calçar agora, então avista uma loja que já tem em estoque alguns modelos e tamanhos comuns e que irão resolver o seu problema no momento, caso o seu tamanho não seja muito grande nem muito pequeno. Semelhante a isso ocorre com o SIH: a loja sob medida seria o sistema adaptativo, capaz de defender o organismo de qualquer invasor, porém este sistema demanda um certo tempo que talvez na prática, assim como ficar descalço no centro da cidade, não seja viável. Para suprir esta necessidade existe o sistema inato, semelhante à loja com pronta entrega, apresentando uma solução rápida, conseguindo proteger o indivíduo de uma certa gama de invasores.

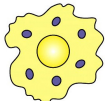





### ***2.1.1 Principais células do SIH***

Algumas células desempenham um importante papel na proteção do organismo e serão resumidamente explicadas nesta subseção para que o entendimento posterior do modelo matemático seja facilitado.

No SIH inato temos um importante grupo de células chamadas de fagócitos, entre elas estão os macrófagos, os granulócitos e as células dendríticas. Os macrófagos residem na maioria dos tecidos e no sangue (onde são chamados de monócitos) e são células de vida relativamente longa. Desempenham diferentes funções tanto na resposta imune inata

quanto na adaptativa. Uma delas consiste em engolfar, ou envolver, antígenos e destruí-los, além de eliminar células mortas. Os macrófagos também auxiliam na resposta imune liberando proteínas que sinalizam a presença de um invasor. Eles ficam como sentinelas, prontos para perceber a presença de invasores e recrutar outras células, principalmente os neutrófilos, que irão ajudar no combate.

Tabela 2.1: Representação gráfica de algumas células do SIH. Adaptado de Murphy *et al.* (2008)

Ícone	Nome
	Macrófago
	Neutrófilo
	Basófilo
	Eosinófilo
	Célula dendrítica
	Antígeno

Os granulócitos se dividem em neutrófilos, basófilos e eosinófilos. Os dois últimos ainda têm seu papel pouco entendido. Acredita-se que eles são importantes na defesa contra invasores maiores como os parasitas, difíceis de serem ingeridos pelos macrófagos ou neutrófilos. Os neutrófilos por sua vez são as células existentes em maior quantidade no SIH inato. Eles, assim como os macrófagos, capturam os invasores envolvendo-os em uma estrutura chamada fagossomo, semelhante à uma bolha, e destruindo-os pela liberação de substâncias tóxicas a eles, num processo chamado fagocitose. A Figura 2.2 ilustra esse processo.

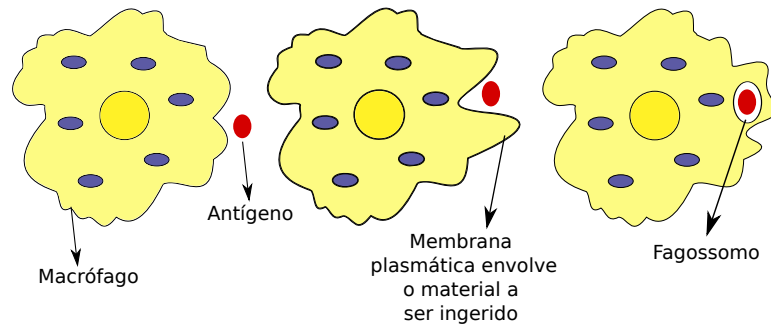


Figura 2.2: Processo de fagocitose. Adaptado de Murphy *et al.* (2008)

As células dendríticas, assim chamadas por possuírem prolongamentos chamados dendritos (do grego *dendron*, que significa árvore), capturam fragmentos de invasores e realizam fagocitose, mas essa não é sua principal função. Quando estas encontram um antígeno, tornam-se maduras, sendo capazes de “apresentar” este antígeno em sua superfície fazendo com que ele seja reconhecido pelas células T, ativando-as. Por esta tarefa são chamadas de células apresentadoras de antígeno (APCs).

No SIH adaptativo temos um importante grupo de células chamadas linfócitos. Essas células, presentes no sangue, são um tipo de leucócito (glóbulo branco) e podem ser de três tipos principais: B, T CD4+ (*helper* ou “auxiliar”) ou T CD8+ (*killer* ou citotóxica). Os linfócitos B, aqui tratados por células B, têm como principal função a produção de anticorpos. Isto ocorre quando eles estão ativos, podendo ser chamados neste estágio de plasmócitos ou células do plasma.

Os linfócitos T CD4+ são estimulados através de informações recebidas pelas APCs a ativar os outros tipos de linfócitos, T CD8+ e B. Os linfócitos T CD8+, também chamados de *killer*, recebem este nome por destruírem células anormais, infectadas ou estranhas ao organismo por meio da liberação de substâncias que sinalizam para a célula infectada que ela deve cometer “suicídio”. Este processo de morte da célula é chamado de apoptose.

Os linfócitos T (CD4+ e CD8+) tornam-se maduros no timo, daí serem chamados de T. Já os linfócitos B maturam na medula óssea ou *Bone Marrow*, por isso são chamados de B. Parte dos linfócitos produzidos torna-se células de memória que duram por muitos anos ou até mesmo a vida toda. São capazes de reconhecer agentes infecciosos com os

quais o organismo já teve contato. Havendo um novo ataque por agentes conhecidos, as células de memória são estimuladas a se reproduzir, dando início a um rápido processo de defesa do organismo.

Existem ainda os anticorpos, eles não têm a função de eliminar o antígeno ou de induzir a apoptose da célula infectada. Eles possuem duas funções distintas: uma é ligar-se especificamente ao antígeno que induziu a resposta imune e a outra é estimular outras células e moléculas a fim de eliminá-lo, uma vez que esteja unido a ele. Em resumo, eles sinalizam o invasor para que este seja fagocitado. Essa sinalização é chamada de opsonização. Os anticorpos são moléculas também chamadas de imunoglobulinas (Ig) e possuem cinco classes: IgG, IgM, IgD, IgA e IgE. Como pode ser visto na Figura 2.3, uma molécula de anticorpo é composta por dois tipos de cadeias proteicas: leves (amarelo) e pesadas (verde). As duas regiões de ligação ao antígeno são as extremidades dos “braços” e variam entre diferentes moléculas de anticorpo, por isso são chamadas de região variável. A base do “Y” é a região constante e interage com as células efectoras, é esta região que diferencia as cinco classes de imunoglobulinas descritas acima.

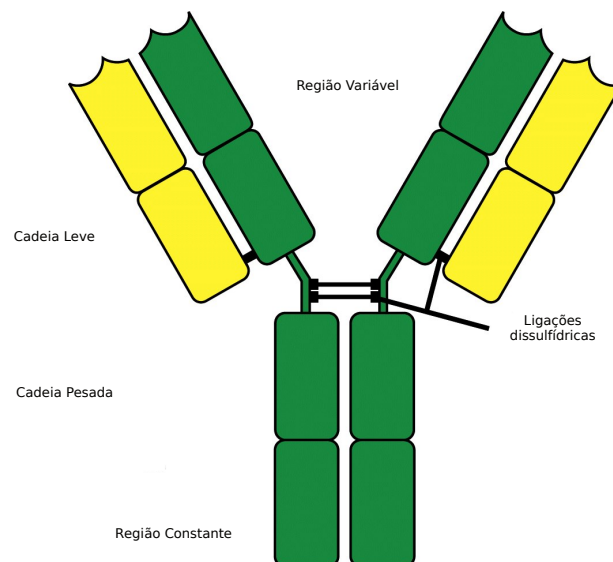


Figura 2.3: Representação simplificada de uma molécula de anticorpo. Adaptado de Murphy *et al.* (2008)

Os antígenos, como já foi dito, podem ser micro-organismos vivos como vírus e bactérias ou agentes nocivos como substâncias tóxicas. Neste trabalho apenas o vírus será



considerado como antígeno, mais especificamente o vírus atenuado usado na fabricação da vacina de FA. Quando o vírus vacinal é inoculado no indivíduo por meio da vacinação, ele tem o objetivo de infectar as células saudáveis do corpo e utilizá-las como fábricas para fazer cópias de vírus, afinal este tipo de micro-organismo não consegue se reproduzir ou se multiplicar de forma autossuficiente. Porém, como este é atenuado, “enfraquecido”, ele infecta apenas uma quantidade de células que seja suficiente para disparar a resposta imune sem que haja danos ao indivíduo.

A resposta imune é um processo complexo que depende de inúmeros componentes do sistema imune, dentre os quais pode-se destacar os linfócitos B e T, que durante o processo se diferenciam em linfócitos efetores, atuando no combate à infecção, ou em linfócitos de memória, possuindo a capacidade de identificar um antígeno com o qual o indivíduo já manteve contato. Ocorrendo uma nova exposição ao mesmo antígeno, o organismo tende a apresentar uma resposta mais rápida e específica, combatendo o invasor antes que os sintomas se manifestem ou que este provoque danos ao indivíduo.

Agora que as principais populações já foram explicadas, é possível entender todo o processo de detecção e combate ao vírus e a aquisição da memória imune. A Figura 2.4 representa a situação em que um micro-organismo infeccioso penetra no epitélio. O micro-organismo adere às células epiteliais e atravessa o epitélio. Em seguida, uma resposta do SIH inato ocorre com a participação dos macrófagos e células dendríticas. Estas migram através dos vasos linfáticos para os linfonodos locais, iniciando a resposta do SIH adaptativo. Os anticorpos e as células T CD8<sup>+</sup> efetoras migram para o local da infecção através dos vasos linfáticos e da corrente sanguínea a fim de auxiliar no combate ao antígeno.

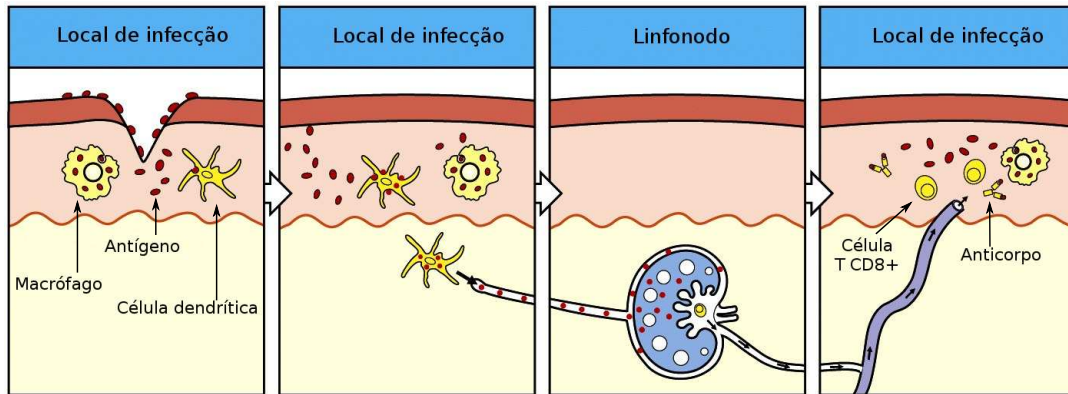


Figura 2.4: Processo de infecção e combate a um invasor. Adaptado de Murphy *et al.* (2008)

## 2.2 Febre Amarela

Esta seção apresenta algumas informações relevantes a respeito da FA, tais como aspectos clínicos e epidemiológicos, e também informações sobre a vacina de FA que serão importantes para o entendimento do modelo que será apresentado no Capítulo 3.

### 2.2.1 Aspectos Clínicos

A FA é uma doença infecciosa transmitida por vetores hematófagos da família *Culicidae*, especialmente dos gêneros *Aedes* e *Haemagogus*. O vírus da FA é um arbovírus da família *Flaviviridae*, à qual também pertence o vírus da dengue (Vasconcelos, 2003). A apresentação clínica se dá com início abrupto de febre alta, calafrios, intensas dores de cabeça, lombares e musculares, náuseas e vômitos, com duração média de 3 dias. Este período corresponde ao período de infecção, durante o qual o vírus amarelo está presente no sangue. O período de infecção é seguido por um período de remissão, com redução da febre e dos sintomas. Cerca de 85% dos pacientes se recupera completamente e fica permanentemente imune à doença (Monath *et al.*, 2013).

Aproximadamente 15% das pessoas infectadas com o vírus da FA desenvolvem a forma moderada ou grave da doença, caracterizada por icterícia (olhos e coloração amarelos, daí o nome de febre amarela) (Monath *et al.*, 2013). Estes pacientes entram no terceiro

estágio da doença, o período de intoxicação, que ocorre entre o terceiro e o sexto dia após o início, com retorno de sintomas como bradicardia (ritmo cardíaco lento ou irregular), náuseas, vômitos, dor epigástrica, icterícia, oligúria (diminuição da produção de urina) e uma diátese hemorrágica (tendência para sangramento sem causa aparente ou hemorragias espontâneas). Nesta fase a viremia, ou o nível de vírus, encontra-se normalmente ausente e os anticorpos já estão presentes.

O diagnóstico preciso da doença torna-se difícil, especialmente nos casos mais simples, pois os sintomas se assemelham aos de outras doenças como dengue hemorrágica, leptospirose, malária, hepatite viral, ebola, entre outras (Monath *et al.*, 2013). O diagnóstico específico pode ser feito através do isolamento do vírus, estudo histopatológico, demonstração do antígeno viral ou resposta específica de anticorpos.

A apresentação e severidade da doença variam de indivíduo para indivíduo, provavelmente devido à variações no comportamento do sistema imune. Infecções anteriores com outros flavivírus (Dengue, Zika e Wesselsbron) podem gerar uma proteção cruzada contra a FA (TP, 2001).

Segundo Benenson (1990) e Monath (1995) *apud* Fernandes (2010), não existe tratamento específico para a FA. Em geral, o paciente fica internado apenas para investigação diagnóstica e um suporte que inclui hidratação e administração de medicamentos para controlar a febre.

### ***2.2.2 Aspectos epidemiológicos***

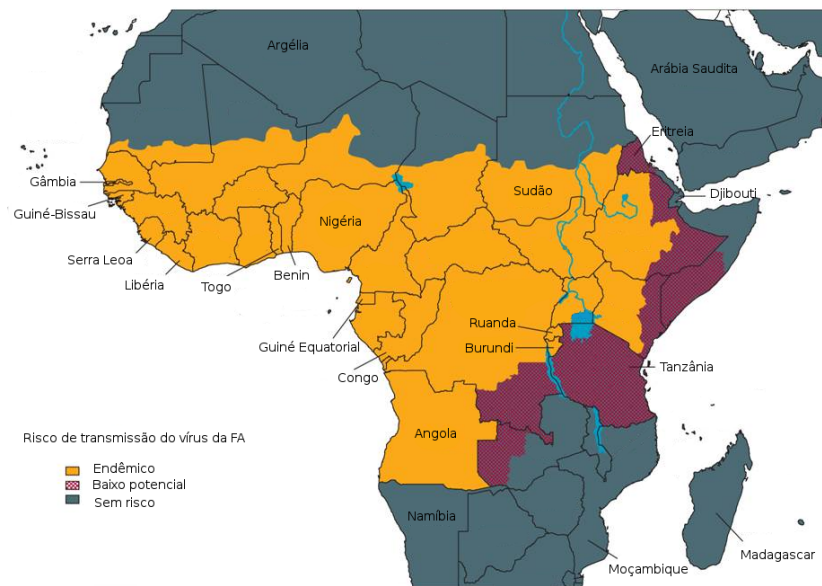
Atualmente a FA é endêmica em países da América do Sul e África. Aproximadamente 200.000 casos de FA causando 30.000 mortes são esperados a cada ano com cerca de 90% deles ocorrendo no continente africano (OMS, 2013). A Figura 2.5 mostra os mapas de risco de infecção pelo vírus da FA nesses continentes.

O ciclo silvestre da doença torna sua erradicação impossível devido à perpetuação do vetor (WHO, 1998) *apud* Fernandes (2010). Além disso, há condições que favorecem o risco de reintrodução da doença em áreas não endêmicas como, por exemplo, infestação do mosquito, baixos níveis de imunização e cobertura vacinal e o alto número de viajantes.

A vacinação no Brasil foi intensificada no final da década de 90 e início da década de 2000, após casos de FA terem ocorrido em regiões e populações com menor cobertura vacinal (Barnett, 2007). Desde 1942 não são registrados casos de FA urbana, mesmo assim, existe o risco de epidemias urbanas devido a ocorrência de epidemias da FA silvestre na região Sudeste, próximas a centros urbanos com infestação do mosquito *Aedes aegypti* (Ministério da Saúde, 2000) *apud* Fernandes (2010). Devido a isto e à expansão da área endêmica no Brasil, a utilização da vacina contra FA tem aumentado (Ministério da Saúde, 2001) *apud* Fernandes (2010).



(a)



(b)

Figura 2.5: Mapas de risco de infecção pelo vírus da FA na América do Sul (a) e na África (b). Adaptado de Jentes *et al.* (2011)

### 2.2.3 *Vacina contra FA*

As vacinas têm a capacidade de induzir resposta imunológica que confere proteção duradoura (Ada, 1999). Porém, a ativação do SIH envolve complexos mecanismos e pode sofrer influência de diferentes fatores. Após o primeiro contato com o antígeno vacinal há indução de resposta imunológica primária pela ativação das respostas humoral (mediada principalmente pelos anticorpos) e celular (mediada principalmente pelos linfócitos T, CD4+ e CD8+). Quando o indivíduo é novamente exposto ao antígeno, ocorre a resposta secundária na qual as células B e T de memória podem ser agilmente ativadas. A resposta decorrente da ativação de células B e T de memória tende a ser mais rápida e potente do que a resposta imunológica primária (Ada, 1999). Os principais determinantes da resposta primária à vacinação são relativos à natureza do antígeno vacinal e sua imunogenicidade (capacidade de conferir imunidade), que depende da dose vacinal e de características inatas do antígeno e do indivíduo. Vacinas com vírus vivos habitualmente apresentam melhores respostas primárias e, segundo Siegrist (2008) *apud* Fernandes (2010), apesar de ser esperada a elevação de anticorpos a níveis considerados protetores, pode haver proteção parcial mesmo sem uma resposta vacinal ideal.

A vacina contra FA é fabricada com vírus vivos e atenuados. O vírus foi isolado em 1927 de um paciente africano (cepa Asibi)<sup>1</sup> e atualmente duas subcepas derivadas da cepa Asibi são usadas na produção, a 17D-204 e a 17DD (Monath *et al.*, 2013). Desde o início da vacinação, em 1937, aproximadamente 600 milhões de doses foram aplicadas (OMS, 2013). Como o vírus vacinal é atenuado (“enfraquecido”), segundo Camacho *et al.*(2005) e Monath (2004) *apud* Fernandes (2010) a viremia após a vacinação é, em geral, breve e tem níveis baixos, com picos entre o terceiro e sétimo dias após a primeira vacinação e indetectável após a segunda dose. A vacinação de FA induz quase a mesma resposta imune da infecção natural, mas com menor viremia e menor risco de reações adversas graves (febre, eventos hemorrágicos, disfunção hepática ou renal). A produção de anticorpos neutralizantes induzidos pela vacina, responsáveis principalmente por conferir imunidade contra uma reexposição ao vírus, é considerada

---

<sup>1</sup>cepa é uma linhagem de algum microrganismo (vírus ou bactéria) produzida em laboratório com alguma finalidade para estudos

o principal marcador de proteção contra futuras infecções. Cerca de 90% dos indivíduos vacinados desenvolvem anticorpos neutralizantes 10 dias após a vacinação e 99%, 30 dias após a vacinação (Barnett, 2007).

Há diferentes métodos para verificação de imunidade contra FA como o PRNT (*Plaque-Reduction Neutralization Test*) e o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). O PRNT é considerado o teste mais sensível e mais específico para FA (Dobler *et al.*, 1997; Niedrig *et al.*, 1999). Ele produz resultados quantitativos (em Unidades Internacionais ou em diluição) que se correlacionam com proteção. O ELISA por sua vez apresenta maior sensibilidade para detecção de anticorpos em indivíduos revacinados (Monath, 2005) *apud* Fernandes (2010).

A recomendação da OMS até 2012 para vacinação contra FA era de aplicação de dose única aos 9 meses de idade, com reforço a cada 10 anos. Atualmente a OMS não recomenda mais a revacinação a cada 10 anos baseada em evidências da persistência de anticorpos neutralizantes após 10 anos de vacinação (Poland *et al.*, 1981) e da identificação de somente 12 casos de FA pós-vacinal, sendo que neste pequeno número de “falhas vacinais” todos os casos desenvolveram a doença dentro de 5 anos após a vacinação (OMS, 2013). Não existem estudos clínicos prospectivos mostrando a durabilidade da proteção da vacina de FA em humanos, mas diferentes estudos apontam evidências para apoiar a nova recomendação da OMS (Poland *et al.*, 1981; Gotuzzo E., 2014; Staples *et al.*, 2010). Na América do Sul, a vacinação em massa levou à redução na incidência de FA na região, o que constitui forte evidência de sua efetividade, sendo a imunização considerada o método mais efetivo para controle da doença.

Apesar das evidências, um estudo feito por Martins and Homma (2013) diz que é preciso cautela antes de suspender a revacinação. Os indivíduos destes estudos não foram monitorados durante todos estes anos, eles podem ter adquirido um reforço natural através do contato com o vírus, durante uma viagem, por exemplo.

# 3 MODELO MATEMÁTICO-COMPUTACIONAL

Este capítulo apresenta o modelo que reproduz a resposta imune à vacinação de FA. Como é um modelo matemático, algumas simplificações tiveram de ser feitas, já que o SIH é uma complexa rede que envolve muitos tecidos, órgãos e células e realiza diversos processos.

O modelo foi baseado em um trabalho anterior realizado por Lee *et al.* (2009) que reproduz os efeitos de uma infecção pelo vírus da influenza A em humanos. Apesar da vacinação contra FA ser feita usando o vírus vivo e atenuado, alguns ajustes foram necessários a fim de melhor representar este processo e não mais o de uma infecção natural. O modelo leva em conta algumas populações que são importantes no processo da resposta gerada pelo organismo após a vacinação. As principais são: vírus, APCs, células T CD8+ (citotóxicas ou *killer*), células T CD4+ (*helper*), células do plasma (secretadoras de anticorpos) de vida curta e vida longa, células B e anticorpos. As condições iniciais e siglas destas populações, bem como os parâmetros das equações e seus significados, serão mostrados nas Tabelas 3.1 e 3.2, respectivamente.

Para melhorar a representação de alguns processos e facilitar a compreensão e resolução do modelo, foram feitos alguns ajustes como a criação de algumas populações tanto no local de inoculação da vacina quanto no compartimento linfático e a ligação entre elas feita com o esquema de fluxo. Este esquema também foi usado para substituir o esquema de equações diferenciais com *delay*. Existe um “atraso” entre o reconhecimento do antígeno no local de infecção e a ativação do sistema imune adaptativo no compartimento linfático. Os esquemas descritos anteriormente, fluxo e *delay*, foram usados para representar este processo. Para englobar a imunidade adquirida, foram criadas populações que simulam memória. Outras modificações menores foram feitas e serão explicadas mais adiante.

O modelo é composto por um sistema com 19 EDOs divididas em dois compartimentos: um referente ao local de aplicação da vacina e outro ao compartimento linfático. Estes



compartimentos foram escolhidos pelo pressuposto de que representam os principais locais de atuação do SIH (inato e adaptativo). No local de inoculação da vacina tem início a resposta imune oferecida pelo sistema inato pois é onde há o primeiro contato com o vírus vacinal. No compartimento linfático ocorre a ativação dos linfócitos e é onde tem início a resposta do sistema adaptativo. O modelo reproduz o comportamento do SIH quando é vacinado contra FA, mas com alguns ajustes poderia também reproduzir uma infecção natural, isto porque a diferença crucial entre essas duas situações está no nível de viremia. Quando o indivíduo é vacinado com uma vacina de vírus vivo e atenuado, que é o caso da FA, é esperado que ele desenvolva uma resposta imunológica bem semelhante à obtida com a infecção natural, porém sem adoecimento. Em geral, o que causa a maioria dos sintomas é a quantidade de vírus no organismo, por isso o vírus vacinal é atenuado para que seja tão “fraco” quanto necessário para não causar a doença e “forte” o suficiente para disparar a resposta imune.

O processo se inicia quando o vírus vacinal é inoculado e, após isso, as células do local são infectadas. Esta infecção estimula as APCs imaturas ( $A_P$ ) presentes no local a “capturarem” o vírus e tornarem-se “carregadas” ( $A_P^*$ ). Estas células então migram para o compartimento linfático e tornam-se maduras ( $A_{PM}$ ), sendo assim capazes de ativar as células virgens, como as T CD4+ ( $T_{HN}$ ).

As células T CD4+ virgens ( $T_{HN}$ ), quando são ativadas pela ação das APCs maduras ( $A_{PM}$ ), se diferenciam em células T CD4+ efetoras ( $T_{HE}$ ). Elas têm a função de auxiliar no processo de recrutamento das populações de linfócitos T CD8+ e de linfócitos B para ajudar no combate à infecção. As células T CD8+ virgens ( $T_{KN}$ ), quando são ativadas com a ajuda das T CD4+ efetoras ( $T_{HE}$ ), se diferenciam em células T CD8+ efetoras ( $T_{KE}$ ) que migram para o local da aplicação, onde têm a função de induzir a apoptose das células infectadas ( $L^*$ ).

As células B virgens ( $B_N$ ), quando ativas ( $B_A$ ), se diferenciam em células do plasma secretadoras de anticorpos de vida curta ( $P_S$ ) e de vida longa ( $P_L$ ). Uma parte das células B ativas se diferenciam também em células B de memória ( $B_M$ ), que permanecerão em “repouso” até que uma nova exposição ao mesmo vírus ocorra. Quando isto acontecer,

elas se tornarão ativas novamente, porém de forma mais rápida, auxiliando no controle da infecção pois produzirão anticorpos, também de forma mais rápida, e esses se “ligarão” aos vírus antes que eles infectem um grande número de células do local. Além disso, as células B de memória ( $B_M$ ) também mantém os níveis de células do plasma de vida longa ( $P_L$ ). A Figura 3.1 mostra um esquema simplificado deste processo.

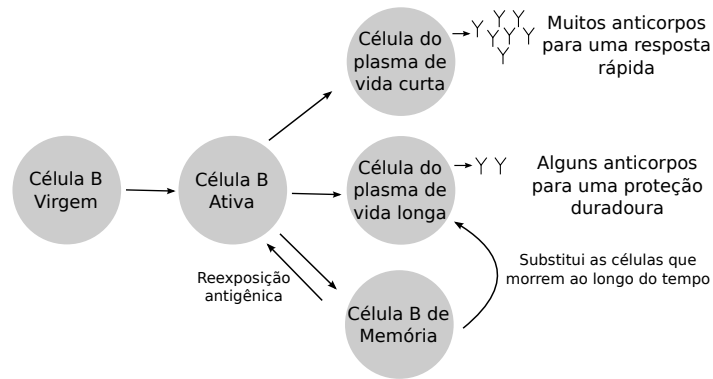


Figura 3.1: Esquema de ativação e diferenciação das células B.

Implicitamente, o modelo também considera populações de células T CD8+ e T CD4+ de memória. Após o fim da infecção, uma parte destas células efetoras permanecerão “adormecidas” no corpo prontas para uma rápida ativação, promovendo a eliminação do vírus de maneira mais eficiente. O processo de eliminação do vírus é chamado de clareamento viral.

A Figura 3.2 é um esquema que mostra as populações consideradas e o relacionamento entre elas. Os retângulos azuis representam as populações cujas equações foram baseadas no modelo de Lee *et al.* (2009) mas que tiveram termos acrescentados ou valores de parâmetros alterados. Os retângulos vermelhos representam as populações que foram adicionadas, que não eram, portanto, consideradas no modelo citado.

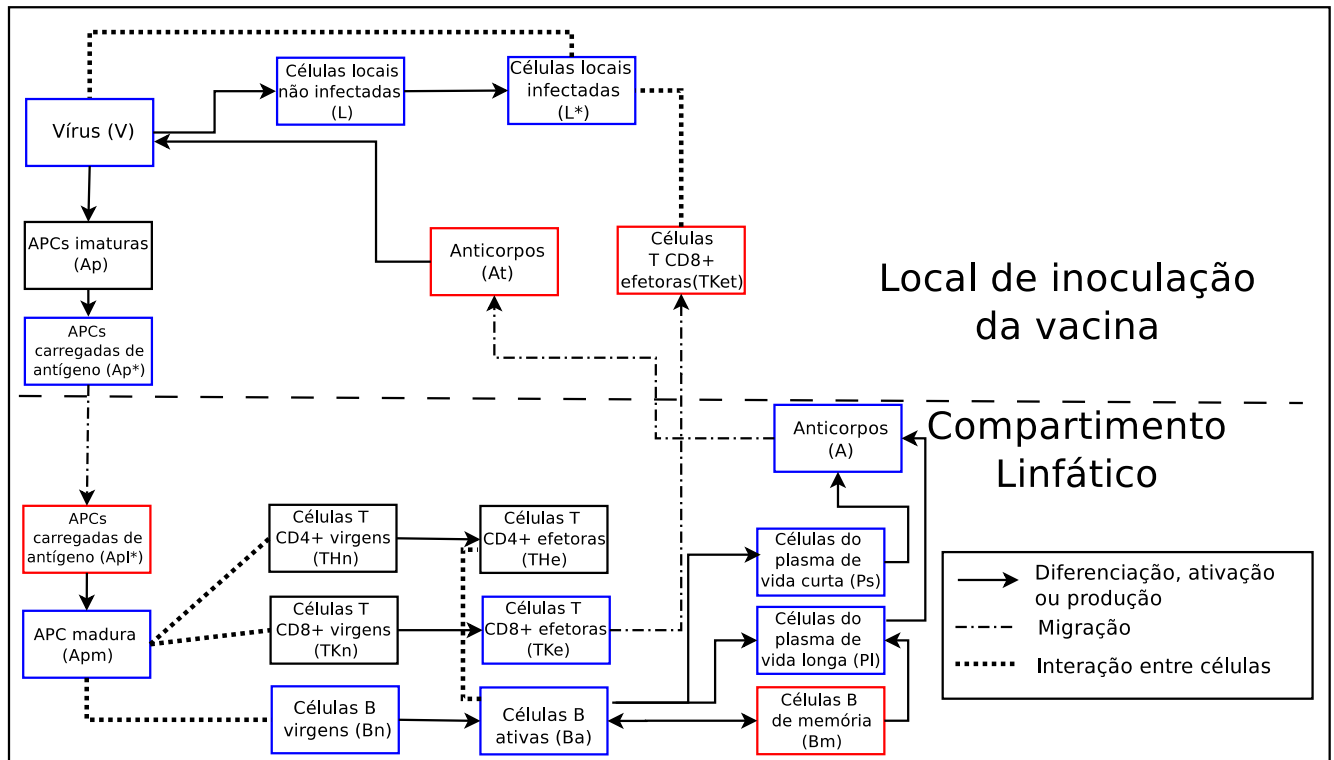


Figura 3.2: Esquema da interação entre as populações consideradas no modelo. Adaptado de Lee *et al.* (2009)

Tabela 3.1: Variáveis do modelo e valores iniciais

Variável	Descrição	Valor inicial
$L$	Células do local não infectadas	$5 \times 10^5$ *
$L^*$	Células do local infectadas	$0^*$
$V$	Vírus	$10^*$
$A_P$	APCs imaturas	$10^3$ *
$A_P^*$	APCs carregadas de antígeno no local	$0$
$T_{KEt}$	Células T CD8+ efetoras no local	$0$
$A_t$	Anticorpos no local	$0$
$A_{PL}^*$	APCs carregadas de antígeno no compartimento linfático	$0$
$A_{PM}$	APCs maduras	$0^*$
$T_{HN}$	Células T CD4+ virgens	$10^3$ *
$T_{HE}$	Células T CD4+ efetoras	$0^*$
$T_{KN}$	Células T CD8+ virgens	$10^3$ *
$T_{KE}$	Células T CD8+ efetoras	$0^*$
$B_N$	Células B virgens	$10^3$ *
$B_A$	Células B ativas	$0^*$
$B_M$	Células B de memória	$0$
$P_S$	Células do plasma de vida curta (células B secretadoras de anticorpos)	$0^*$
$P_L$	Células do plasma de vida longa (células B secretadoras de anticorpos)	$0^*$
$A$	Anticorpos no compartimento linfático	$0^*$

\* Valores extraídos de Lee *et al.* (2009)

Tabela 3.2: Parâmetros do modelo

Parâmetro	Descrição	Valor
$\delta_{LN}$	Taxa de homeostase das células do local não infectadas ( $\text{dia}^{-1}$ )	$9,9^{-2**}$
$\beta_L$	Taxa de infecção das células do local por unidade de VFA [ $\text{dia}^{-1}(\text{LD}_{50}/\text{ml})^{-1}$ ]	$7 \times 10^{-5*}$
$k_L$	Taxa de morte das células do local infectadas devido à ação das células T CD8+ ( $\text{dia}^{-1}$ )	$1,78 \times 10^{-4*}$
$\delta_{L*}$	Taxa de morte das células do local infectadas ( $\text{dia}^{-1}$ )	$1,2^*$
$c_V$	Taxa de clareamento viral ( $\text{dia}^{-1}$ )	$1,0^*$
$k_v$	Taxa constante de neutralização do VFA por unidade de anticorpos neutralizantes ( $\text{dia}^{-1} \text{ titer}^{-1}$ )	$4 \times 10^{-3*}$
$\delta_{APN}$	Taxa de homeostase das APCs ( $\text{dia}^{-1}$ )	$10^{-3*}$
$\beta_{Ap}$	Taxa de captura de antígeno [ $\text{dia}^{-1}(\text{LD}_{50}/\text{ml})^{-1}$ ]	$10^{-2*}$
$\delta_{Ap*}$	Taxa de morte das APCs carregadas de antígeno ( $\text{dia}^{-1}$ )	$2,9^*$
$\alpha_{Ap}$	Taxa de fluxo das $Ap^*$ ( $\text{cm}^3 \text{ dia}^{-1}$ )	$5,5^{***}$
$\delta_{TKE}$	Taxa de morte das células T CD8+ no local ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,5^{***}$
$\alpha_{At}$	Taxa de fluxo de anticorpos ( $\text{cm}^3 \text{ dia}^{-1}$ )	$8 \times 10^{-3***}$
$\delta_{At}$	Taxa de decaimento de anticorpos no local ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,001^{***}$
$\delta_{ApL}^*$	Taxa de morte das APCs carregadas de antígeno no compartimento linfático ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,5^{***}$
$k_{Ap}$	Taxa de processamento de antígeno ( $\text{dia}^{-1}$ )	$200,0^*$
$\delta_{APM}$	Taxa de morte das APCs maduras ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,5^*$
$\delta_{THN}$	Taxa de homeostase das células T CD4+ virgens ( $\text{dia}^{-1}$ )	$2 \times 10^{-3*}$
$\delta_{TKN}$	Taxa de homeostase das células T CD8+ virgens ( $\text{dia}^{-1}$ )	$2 \times 10^{-3*}$
$\delta_{BN}$	Taxa de homeostase das células B virgens ( $\text{dia}^{-1}$ )	$2 \times 10^{-3*}$
$\delta_{BA}$	Taxa de morte das células B ativas ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,5^{**}$
$\pi_S$	Taxa de diferenciação das células B ativas em células do plasma de vida curta ( $\text{dia}^{-1}$ )	$5 \times 10^{-1**}$
$\pi_L$	Taxa de diferenciação das células B ativas em células do plasma de vida longa ( $\text{dia}^{-1}$ )	$8 \times 10^{-9*}$
$\delta_{BM}$	Taxa de diferenciação das células B ativas em células B de memória ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,01^{***}$
$\pi_M$	Taxa de diferenciação das células B de memória em células do plasma de vida longa ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,04^{***}$
$\delta_{BMN}$	Taxa de morte das células B de memória ( $\text{dia}^{-1}$ )	$5,0^{***}$
$\delta_S$	Taxa de morte das células do plasma de vida curta ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,5^{**}$
$\delta_L$	Taxa de morte das células do plasma de vida longa ( $\text{dia}^{-1}$ )	$3 \times 10^{-2*}$
$\pi_{AS}$	Taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida curta ( $\text{dia}^{-1}$ )	$12,0^{**}$
$\pi_{AL}$	Taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida longa ( $\text{dia}^{-1}$ )	$3,0^{**}$
$\delta_A$	Taxa de clareamento de anticorpos ( $\text{dia}^{-1}$ )	$0,04^*$
$V_t$	Volume considerado para o local de inoculação da vacina ( $\text{cm}^3$ )	1
$V_L$	Volume considerado para o compartimento linfático ( $\text{cm}^3$ )	1

\* Valores extraídos de Lee *et al.* (2009)

\*\* Parâmetros que tiveram seus valores originais modificados

\*\*\* Parâmetros adicionados

### 3.1 Detalhamento do modelo

A Equação (3.1) modela as células não infectadas do local de inoculação da vacina ( $L$ ).

$$\frac{d}{dt}L = \delta_{LN}(L_0 - L) - \beta_L LV \quad (3.1)$$

O termo  $\delta_{LN}$  representa a taxa de homeostase, isto é, uma taxa constante de regeneração destas células. Este parâmetro teve seu valor alterado para melhor representar a recuperação do indivíduo. O equilíbrio do organismo é, agora, restabelecido de forma mais rápida. O termo  $\beta_L LV$  denota a infecção viral das células do local, onde  $\beta_L$  é a taxa de infecção.

Será possível observar que os processos de ativação de todas as populações virgens, de transformação de células do local não infectadas para infectadas e de mudança das APCs imaturas para carregadas de antígeno são representados por um termo que é subtraído de uma população e adicionado em outra. Este é o caso do termo  $\beta_L LV$ , citado anteriormente, que é subtraído da Equação (3.1) e adicionado na Equação (3.2), que representa as células do local que foram infectadas. O mesmo se aplica nas Equações (3.11), (3.13) e (3.15) com os termos  $\pi_{T_H}(A_{PM})T_{HN}$ ,  $\pi_{T_K}(A_{PM})T_{KN}$  e  $\pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N$ , respectivamente, representando as células virgens que tornaram-se efectoras ou ativas.

A Equação (3.2) representa as células do local infectadas pelo vírus da vacina de FA ( $L^*$ ).

$$\frac{d}{dt}L^* = \beta_L LV - k_L L^* T_{KEt} - \delta_{L^*} L^* \quad (3.2)$$

Nesta equação,  $k_L L^* T_{KEt}$  denota a remoção das células infectadas feita pelas células T CD8+ ( $T_{KEt}$ ) presentes no local de inoculação da vacina, onde  $k_L$  é a taxa de remoção. Este termo foi alterado para substituir a população de células T CD8+, que pertencia ao outro compartimento, pela população de células T CD8+ do local, população esta que não existia no modelo de Lee *et al.* (2009). Além disso, o esquema de *delay* foi substituído pelo de fluxo. Os dois esquemas são usados para representar a migração das células entre

os compartimentos considerados. A morte das células infectadas é modelada por  $\delta_{L^*}L^*$ , onde  $\delta_{L^*}$  é a taxa de morte. A Equação (3.3) corresponde às células T CD8+ no local de inoculação da vacina. Esta é uma população nova, que não existia no modelo de Lee *et al.* (2009).

$$\frac{d}{dt}T_{KEt} = \alpha_{T_{KE}}(A_{PM})\left(\frac{T_{KE}}{V_L} - \frac{T_{KEt}}{V_t}\right) - \delta_{T_{KE}}T_{KEt} \quad (3.3)$$

O termo  $\alpha_{T_{KE}}(A_{PM})\left(\frac{T_{KE}}{V_L} - \frac{T_{KEt}}{V_t}\right)$  denota o fluxo de células T CD8+ do compartimento linfático para o local, onde  $\alpha_{T_{KE}}(A_{PM})$  é uma função não linear usada para representar este fluxo. O termo  $\delta_{T_{KE}}T_{KEt}$  denota um decaimento natural, onde  $\delta_{T_{KE}}$  é a taxa de decaimento. A Equação (3.4) mostra a função não linear  $\alpha_{T_{KE}}(A_{PM})$ . Algumas outras funções não lineares que serão usadas no modelo apresentam a forma da Equação (3.4) e serão mostradas na Seção 3.3.

$$\alpha_{T_{KE}}(A_{PM}) = \frac{\alpha_{TK1}A_{PM}}{A_{PM} + \alpha_{TK2}} \quad (3.4)$$

A Equação (3.5) representa o vírus vacinal ( $V$ ).

$$\frac{d}{dt}V = \pi_V(V)L^* - c_VV - k_vVA_t \quad (3.5)$$

O vírus não consegue se proliferar sozinho, ele precisa infectar uma célula e usá-la como “fábrica” no novos vírus. Por este motivo, o termo  $\pi_V(V)L^*$  denota a produção de novos vírus pelas células infectadas. O termo  $c_VV$  denota um clareamento viral não específico feito pelo sistema imune inato, onde  $c_V$  é a taxa de clareamento viral. O termo  $k_vVA_t$  denota o clareamento viral específico devido à opsonização do vírus da FA pelos anticorpos, com uma taxa de clareamento viral  $k_v$ . Este termo foi alterado para substituir a população de anticorpos no compartimento linfático pela nova população de anticorpos, presentes no local de inoculação da vacina.

A equação original do vírus (Lee *et al.*, 2009) apresentava um problema de instabilidade em um ponto de equilíbrio: o ponto onde a população de vírus era nula era instável. Para solucionar esse problema, o parâmetro original constante  $\pi_V$  foi substituído por uma

função não linear  $\pi_V(V)$ .

Outra importante modificação foi a introdução de uma população de anticorpos no local ( $A_t$ ). A Equação (3.6) representa essa população.

$$\frac{d}{dt}A_t = \alpha_{A_t}\left(\frac{A}{V_L} - \frac{A_t}{V_t}\right) - \delta_{A_t}A_t \quad (3.6)$$

O termo  $\alpha_{A_t}\left(\frac{A}{V_L} - \frac{A_t}{V_t}\right)$  denota a migração dos anticorpos do compartimento linfático para o local de inoculação da vacina através de um esquema de fluxo, onde  $\alpha_{A_t}$  é a taxa de fluxo. Esse novo esquema substitui o original (Lee *et al.*, 2009), onde a migração do compartimento linfático para o tecido ocorria “instantaneamente”. Acredita-se que o esquema proposto é mais realístico do que o original. O termo  $\delta_{A_t}A_t$  representa um decaimento natural dos anticorpos no local, onde  $\delta_{A_t}$  é a taxa de decaimento.

As APCs representam todas as células que apresentam complexos de antígenos nas suas superfícies, como as células dendríticas e os macrófagos. Existem três estágios de APCs: imaturas, carregadas de antígeno e maduras. O estágio das APCs imaturas ( $A_P$ ) é dado na Equação (3.7), que foi mantida na forma original obtida em Lee *et al.* (2009).

$$\frac{d}{dt}A_P = \delta_{A_{PN}}(A_{P0} - A_P) - \beta_{A_P}A_PV \quad (3.7)$$

O termo  $\delta_{A_{PN}}(A_{P0} - A_P)$  denota a homeostase das APCs, onde  $\delta_{A_{PN}}$  é a taxa de homeostase. O termo  $\beta_{A_P}A_PV$  denota o decaimento das APCs imaturas devido ao fato de tornarem-se “carregadas” de antígeno. Este mesmo termo aparece na Equação (3.8) com sinal positivo, isso porque a população de APCs imaturas foi diminuída e a de APCs carregadas foi acrescida.

No modelo original de Lee *et al.* (2009), a conexão entre as APCs carregadas de antígeno e as maduras foi feita usando o mesmo esquema de *delay* citado anteriormente. Foi criada uma população de APCs carregadas no compartimento linfático e também um esquema de fluxo conectando esse compartimento ao do local de inoculação da vacina. Por essa razão, as equações originais que representam as APCs carregadas de antígeno e maduras também foram modificadas. A Equação (3.8) corresponde às APCs carregadas



de antígeno no local de inoculação da vacina ( $A_P^*$ ).

$$\frac{d}{dt}A_P^* = \beta_{A_P}A_P V - \delta_{A_P^*}A_P^* - \alpha_{A_P}\left(\frac{A_P^*}{V_t} - \frac{A_{PL}^*}{V_L}\right) \quad (3.8)$$

O termo  $\delta_{A_P^*}A_P^*$  denota o decaimento natural das APCs carregadas, onde  $\delta_{A_P^*}$  é a taxa de decaimento. O termo  $\alpha_{A_P}\left(\frac{A_P^*}{V_t} - \frac{A_{PL}^*}{V_L}\right)$  modela o fluxo das APCs carregadas entre os dois compartimentos, onde  $\alpha_{A_P}$  é a taxa de fluxo.

A Equação (3.9) foi introduzida no modelo e representa a população de APCs carregadas de antígeno no compartimento linfático ( $A_{PL}^*$ ).

$$\frac{d}{dt}A_{PL}^* = \alpha_{A_P}\left(\frac{A_P^*}{V_t} - \frac{A_{PL}^*}{V_L}\right) - \delta_{A_{PL}^*}A_{PL}^* \quad (3.9)$$

Nesta equação,  $\alpha_{A_P}\left(\frac{A_P^*}{V_t} - \frac{A_{PL}^*}{V_L}\right)$  representa a migração das APCs vindas do local de inoculação da vacina. O termo  $\delta_{A_{PL}^*}A_{PL}^*$  denota o decaimento natural das APCs carregadas no compartimento linfático, onde  $\delta_{A_{PL}^*}$  é a taxa de decaimento.

A Equação (3.10) corresponde às APCs maduras ( $A_{PM}$ ).

$$\frac{d}{dt}A_{PM} = k_{A_P}A_{PL}^* - \delta_{A_{PM}}A_{PM} \quad (3.10)$$

O termo  $k_{A_P}A_{PL}^*$  denota a dinâmica da maturação das APCs, onde  $k_{A_P}$  é a taxa de maturação. Dessa forma elas podem ativar células B e T. O termo  $\delta_{A_{PM}}A_{PM}$  denota o decaimento natural, onde  $\delta_{A_{PM}}$  é a taxa de decaimento. Esta equação sofreu uma pequena modificação referente à substituição das APCs carregadas do local de inoculação ( $A_P^*$ ) pelas APCs carregadas do compartimento linfático ( $A_{PL}^*$ ).

As equações que representam as populações de células T CD4+ virgens ( $T_{HN}$ ), T CD4+ efectoras ( $T_{HE}$ ) e T CD8+ virgens ( $T_{KN}$ ) foram mantidas inalteradas, exceto pela nomenclatura, e são mostradas nas Equações (3.11), (3.12) e (3.13), respectivamente.

$$\frac{d}{dt}T_{HN} = \delta_{T_{HN}}(T_{H_0} - T_{HN}) - \pi_{T_H}(A_{PM})T_{HN} \quad (3.11)$$

O termo  $\delta_{T_{HN}}(T_{H_0} - T_{HN})$  representa a homeostase das células T CD4+ virgens, onde

$\delta_{T_{HN}}$  é a taxa de homeostase. O termo  $\pi_{T_H}(A_{PM})T_{HN}$  representa a ativação das células T CD4+ virgens, onde  $\pi_{T_H}(A_{PM})$  é uma função não linear de ativação.

$$\frac{d}{dt}T_{HE} = \pi_{T_H}(A_{PM})T_{HN} + \rho_{T_H}(A_{PM})T_{HE} - \delta_{T_H}(A_{PM})T_{HE} \quad (3.12)$$

O termo  $\pi_{T_H}(A_{PM})T_{HN}$  representa a ativação das células T CD4+ virgens, como foi mostrado anteriormente. O termo  $\rho_{T_H}(A_{PM})T_{HE}$  denota a proliferação das células T CD4+ efetoras, onde  $\rho_{T_H}(A_{PM})$  é uma função não linear de proliferação. O termo  $\delta_{T_H}(A_{PM})T_{HE}$  denota o decaimento das células T CD4+ efetoras, onde  $\delta_{T_H}(A_{PM})$  é uma função não linear de decaimento.

$$\frac{d}{dt}T_{KN} = \delta_{T_{KN}}(T_{K_0} - T_{KN}) - \pi_{T_K}(A_{PM})T_{KN} \quad (3.13)$$

O termo  $\delta_{T_{KN}}(T_{K_0} - T_{KN})$  denota a homeostase das células T CD8+ virgens, onde  $\delta_{T_{KN}}$  é a taxa de homeostase. O termo  $\pi_{T_K}(A_{PM})T_{KN}$  denota a ativação das células T CD8+ virgens, onde  $\pi_{T_K}(A_{PM})$  é uma função não linear de ativação.

A Equação (3.14), que representa a população de células T CD8+ efetoras no compartimento linfático ( $T_{KE}$ ), foi modificada para incluir o esquema de fluxo utilizado para modelar a comunicação com a população desse tipo de células no local de aplicação da vacina. O termo  $\alpha_{T_K}(A_{PM})(\frac{T_{KE}}{V_L} - \frac{T_{KEt}}{V_t})$  denota esse fluxo, onde  $\alpha_{T_K}(A_{PM})$  é uma função não linear de fluxo.

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}T_{KE} = & \pi_{T_K}(A_{PM})T_{KN} + \rho_{T_K}(A_{PM})T_{KE} - \delta_{T_K}(A_{PM})T_{KE} - \\ & - \alpha_{T_K}(A_{PM})(\frac{T_{KE}}{V_L} - \frac{T_{KEt}}{V_t}) \end{aligned} \quad (3.14)$$

O termo  $\pi_{T_K}(A_{PM})T_{KN}$  denota a ativação das células T CD8+ virgens, como já foi dito. O termo  $\rho_{T_K}(A_{PM})T_{KE}$  denota a proliferação das células T CD8+ efetoras, onde  $\rho_{T_K}(A_{PM})$  é uma função não linear de proliferação. O termo  $\delta_{T_K}(A_{PM})T_{KE}$  denota o decaimento das células T CD8+ efetoras, onde  $\delta_{T_K}(A_{PM})$  é uma função não linear de

decaimento.

As equações originais do modelo (Lee *et al.*, 2009) que representam as populações de células B virgens e ativas foram modificadas: as células T CD4+ desempenham um importante papel nos processos de ativação e proliferação das células B (Monath *et al.*, 2013) e esse fato não foi completamente modelado pelo conjunto original de equações. Por essa razão, a participação das células T CD4+ foi incluída no termo  $\pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N$ , que modela a ativação das células B. A Equação (3.15) representa as células B virgens ( $B_N$ ).

$$\frac{d}{dt}B_N = \delta_{B_N}(B_{N_0} - B_N) - \pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N \quad (3.15)$$

O termo  $\delta_{B_N}(B_{N_0} - B_N)$  denota a homeostase das células B virgens, onde  $\delta_{B_N}$  é a taxa de homeostase. O termo  $\pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N$  denota a ativação das células B virgens, onde  $\pi_B(A_{PM} + hT_{HE})$  é uma função não linear de ativação.

A Equação (3.16) representa as células B ativas ( $B_A$ ). Alguns termos foram adicionados nela a fim de representar uma importante população do sistema imune adaptativo, as células B de memória. Uma parcela das células B ativas que não se diferenciam em células do plasma, se diferenciam em células de memória. Elas permanecem em repouso, prontas para uma rápida ativação no caso de uma reexposição ao mesmo antígeno.

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}B_A = & \pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N + \rho_B(A_{PM} + hT_{HE})B_A - \delta_{B_A}B_A - \\ & - \pi_S B_A - \pi_L T_{HE} B_A - \delta_{B_M} T_{HE} B_A + \pi_{B_M}(A_{PM} + hT_{HE})B_M \end{aligned} \quad (3.16)$$

Como já foi dito, o termo  $\pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N$  denota a ativação das células B virgens. O termo  $\rho_B(A_{PM} + hT_{HE})B_A$  denota a proliferação das células B ativas, onde  $\rho_B(A_{PM} + hT_{HE})$  é uma função não linear de proliferação. O termo  $\delta_{B_A}B_A$  denota o decaimento natural, onde  $\delta_{B_A}$  é a taxa de decaimento. Este parâmetro teve seu valor reduzido de 0,9 para 0,5, isso foi necessário já que uma parte do decaimento ocorre devido à diferenciação

das células B ativas em células de memória. Os termos  $\pi_S B_A$  e  $\pi_L T_{HE} B_A$  denotam as parcelas de células B ativas que se diferenciam em células do plasma de vida curta e vida longa, onde  $\pi_S$  e  $\pi_L$  são as taxas de diferenciação, respectivamente. O termo  $\delta_{B_M} T_{HE} B_A$  denota a diferenciação das células B ativas em células B de memória e o termo  $\pi_{B_M} (A_{PM} + h T_{HE}) B_M$  denota as células B de memória que foram reativadas devido a uma nova exposição antigênica.

A Equação (3.17) corresponde às células B de memória ( $B_M$ ).

$$\frac{d}{dt} B_M = \delta_{B_M} T_{HE} B_A - \pi_{B_M} (A_{PM} + h T_{HE}) B_M + \pi_{PB_M} (B_M) - \delta_{B_M N} B_M - \pi_M B_M \quad (3.17)$$

O termo  $\delta_{B_M} T_{HE} B_A$  denota a diferenciação das células B ativas em células B de memória, como foi dito anteriormente. O termo  $\pi_{B_M} (A_{PM} + h T_{HE}) B_M$  denota a ativação das células B de memória devido a uma nova exposição antigênica. O termo  $\pi_{PB_M} (B_M)$  denota a proliferação das células B de memória, onde  $\pi_{PB_M} (B_M)$  é uma função não linear de proliferação. O termo  $\delta_{B_M N} B_M$  denota o decaimento natural, onde  $\delta_{B_M N}$  é a taxa de decaimento. O termo  $\pi_M B_M$  representa a produção de células do plasma de vida longa pelas células B de memória.

A Equação (3.18) representa as células do plasma de vida curta ( $P_S$ ).

$$\frac{d}{dt} P_S = \pi_S B_A - \delta_S P_S \quad (3.18)$$

O termo  $\pi_S B_A$  denota a parcela de células B ativas que se diferenciam em células do plasma de vida curta. O termo  $\delta_S P_S$  denota o decaimento natural, onde  $\delta_S$  é a taxa de decaimento. Os parâmetros  $\pi_S$  e  $\delta_S$  tiveram seus valores alterados para que fosse possível o ajuste do modelo aos dados experimentais obtidos.

A Equação (3.19) representa as células do plasma de vida longa ( $P_L$ ).

$$\frac{d}{dt} P_L = \pi_L T_{HE} B_A - \delta_L P_L + \pi_M B_M \quad (3.19)$$

O termo  $\pi_L T_{HE} B_A$  denota a parcela de células B ativas que se diferenciam em células

do plasma de vida longa. O termo  $\delta_L P_L$  denota o decaimento natural, onde  $\delta_L$  é a taxa de decaimento. Nela foi incluído um novo termo,  $\pi_M B_M$ , que representa a produção dessas células pelas células B de memória, onde  $\pi_M$  é a taxa de produção.

A Equação (3.20) representa os anticorpos no compartimento linfático ( $A$ ). Ela foi modificada para incluir o termo  $\alpha_{A_t}(\frac{A}{V_L} - \frac{A_t}{V_t})$  que representa a migração destas células para o local de aplicação, como dito anteriormente. Os termos  $\pi_{AS}P_S$  e  $\pi_{AL}P_L$  representam a produção dos anticorpos pelas células do plasma de vida curta e de vida longa, respectivamente, onde  $\pi_{AS}$  e  $\pi_{AL}$  são as taxas de produção. O termo  $\delta_A A$  denota o decaimento natural, onde  $\delta_A$  é a taxa de decaimento. Os parâmetros  $\pi_{AS}$  e  $\pi_{AL}$  tiveram seus valores alterados para melhor representar a produção de anticorpos pelas células do plasma de vida curta e vida longa. Os valores originais davam a entender que as células de vida curta produziam menos anticorpos que as de vida longa, o que contradiz o comportamento descrito na literatura.

$$\frac{d}{dt}A = \pi_{AS}P_S + \pi_{AL}P_L - \delta_A A - \alpha_{A_t}\left(\frac{A}{V_L} - \frac{A_t}{V_t}\right) \quad (3.20)$$

## 3.2 Modelo completo

Em resumo, as equações do modelo que descrevem a resposta do SIH no local de aplicação da vacina são:

$$\frac{d}{dt}L = \delta_{LN}(L_0 - L) - \beta_L LV \quad (3.21)$$

$$\frac{d}{dt}L^* = \beta_L LV - k_L L^* T_{KEt} - \delta_{L^*} L^* \quad (3.22)$$

$$\frac{d}{dt}V = \pi_V(V)L^* - c_V V - k_v V A_t \quad (3.23)$$

$$\frac{d}{dt}A_P = \delta_{A_{PN}}(A_{P0} - A_P) - \beta_{A_P} A_P V \quad (3.24)$$

$$\frac{d}{dt}A_P^* = \beta_{A_P}A_PV - \delta_{A_P^*}A_P^* - \alpha_{A_P}\left(\frac{A_P^*}{V_t} - \frac{A_{PL}^*}{V_L}\right) \quad (3.25)$$

$$\frac{d}{dt}T_{KEt} = \alpha_{T_K}(A_{PM})\left(\frac{T_{KE}}{V_L} - \frac{T_{KEt}}{V_t}\right) - \delta_{T_{KE}}T_{KEt} \quad (3.26)$$

$$\frac{d}{dt}A_t = \alpha_{A_t}\left(\frac{A}{V_L} - \frac{A_t}{V_t}\right) - \delta_{A_t}A_t \quad (3.27)$$

A dinâmica do SIH no compartimento linfático é modelada pelo conjunto de equações a seguir.

$$\frac{d}{dt}A_{PL}^* = \alpha_{A_P}\left(\frac{A_P^*}{V_t} - \frac{A_{PL}^*}{V_L}\right) - \delta_{A_{PL}^*}A_{PL}^* \quad (3.28)$$

$$\frac{d}{dt}A_{PM} = K_{A_P}A_{PL}^* - \delta_{A_{PM}}A_{PM} \quad (3.29)$$

$$\frac{d}{dt}T_{HN} = \delta_{T_{HN}}(T_{H_0} - T_{HN}) - \pi_{T_H}(A_{PM})T_{HN} \quad (3.30)$$

$$\frac{d}{dt}T_{HE} = \pi_{T_H}(A_{PM})T_{HN} + \rho_{T_H}(A_{PM})T_{HE} - \delta_{T_H}(A_{PM})T_{HE} \quad (3.31)$$

$$\frac{d}{dt}T_{KN} = \delta_{T_{KN}}(T_{K_0} - T_{KN}) - \pi_{T_K}(A_{PM})T_{KN} \quad (3.32)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}T_{KE} = \pi_{T_K}(A_{PM})T_{KN} + \rho_{T_K}(A_{PM})T_{KE} - \delta_{T_K}(A_{PM})T_{KE} - \\ - \alpha_{T_K}(A_{PM})\left(\frac{T_{KE}}{V_L} - \frac{T_{KEt}}{V_t}\right) \end{aligned} \quad (3.33)$$

$$\frac{d}{dt}B_N = \delta_{B_N}(B_{N_0} - B_N) - \pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N \quad (3.34)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}B_A = & \pi_B(A_{PM} + hT_{HE})B_N + \rho_B(A_{PM} + hT_{HE})B_A - \delta_{B_A}B_A - \\ & - \pi_S B_A - \pi_L T_{HE} B_A - \delta_{BM} T_{HE} B_A + \pi_{BM}(A_{PM} + hT_{HE})B_M \end{aligned} \quad (3.35)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}B_M = & \delta_{B_M} T_{HE} B_A - \pi_{B_M}(A_{PM} + hT_{HE})B_M + \pi_{PB_M}(B_M) - \\ & - \delta_{B_{M_N}} B_M - \pi_M B_M \end{aligned} \quad (3.36)$$

$$\frac{d}{dt}P_S = \pi_S B_A - \delta_S P_S \quad (3.37)$$

$$\frac{d}{dt}P_L = \pi_L T_{HE} B_A - \delta_L P_L + \pi_M B_M \quad (3.38)$$

$$\frac{d}{dt}A = \pi_{AS} P_S + \pi_{AL} P_L - \delta_A A - \alpha_{A_t} \left( \frac{A}{V_L} - \frac{A_t}{V_t} \right) \quad (3.39)$$

O modelo descrito foi usado para avaliar dois cenários: o primeiro considera um indivíduo sendo vacinado, pela primeira vez, contra a FA. Já o segundo cenário simula uma reexposição antigênica através de uma dose reforço da vacina após dez anos. Em todos os experimentos numéricos foram usados os valores da Tabela 3.1 para as condições iniciais e das Tabelas 3.2 e 3.3 para os parâmetros.

No primeiro cenário, que simula uma primeira vacinação contra FA, uma quantidade inicial de vírus diferente de zero foi inserida no modelo e este foi simulado por 4000 dias para que fossem feitas comparações com dados experimentais obtidos nos estudos de Kay *et al.* (2011) e Collaborative group (2014). Neste caso, considerou-se também que nunca houve exposição a outros flavivírus, como o vírus da Dengue, que possam gerar proteção cruzada. No caso de uma revacinação, foi feita uma simulação de 5000 dias injetando o vírus vacinal no primeiro dia, assim como no caso anterior, e reinjetando a mesma

quantidade com 3650 dias (10 anos).

### 3.3 Funções usadas no modelo

Algumas equações apresentam termos cujos parâmetros não são constantes, mas funções. A Equação (3.31) é um bom exemplo porque seus três termos são compostos pelas funções  $\pi_{TH}(A_{PM})$ ,  $\rho_{TH}(A_{PM})$  e  $\delta_{TH}(A_{PM})$ . As Equações de (3.40) a (3.51) apresentam todas as funções não lineares usadas no modelo. Estas funções se baseiam no conceito apresentado por Michaelis and Menten (Sneyd and Keener, 1998), usado normalmente para reações químicas. Neste contexto, sob pequenas concentrações de substrato, a taxa da reação é obedecida, mas quando há alta concentração de substrato, a taxa de reação satura ao valor estabelecido por um dos parâmetros contidos na função. No contexto do modelo apresentado neste trabalho, isso quer dizer que as células T virgens, por exemplo, se ativam dependendo da quantidade de APCs maduras, mas que se houver uma enorme quantidade de APCs maduras não significa que as células T virgens continuarão sendo ativadas indefinidamente, existindo assim um limite que é dado pelo valor de saturação.

Cada função tem dois importantes parâmetros: um associado ao valor de saturação e outro ao número de células necessário para a metade da ativação/proliferação máxima. Na Equação (3.41), por exemplo, esses parâmetros são  $\pi_{TH1}$  e  $\pi_{TH2}$ , respectivamente. Em algumas funções, existe ainda outro parâmetro,  $h$ . Ele representa o fator de ativação das células B virgens e de memória, bem como de proliferação das células B ativas; todos esses processos têm a participação das células T CD4+. Estes parâmetros e seus valores podem ser vistos na Tabela 3.3.

$$\pi_V(V) = \frac{\pi_{V1}V}{V + \pi_{V2}} \quad (3.40)$$

$$\pi_{TH}(A_{PM}) = \frac{\pi_{TH1}A_{PM}}{A_{PM} + \pi_{TH2}} \quad (3.41)$$



$$\rho_{TH}(A_{PM}) = \frac{\rho_{TH1}A_{PM}}{A_{PM} + \rho_{TH2}} \quad (3.42)$$

$$\delta_{TH}(A_{PM}) = \frac{\delta_{TH1}A_{PM}}{A_{PM} + \delta_{TH2}} \quad (3.43)$$

$$\pi_{TK}(A_{PM}) = \frac{\pi_{TK1}A_{PM}}{A_{PM} + \pi_{TK2}} \quad (3.44)$$

$$\rho_{TK}(A_{PM}) = \frac{\rho_{TK1}A_{PM}}{A_{PM} + \rho_{TK2}} \quad (3.45)$$

$$\delta_{TK}(A_{PM}) = \frac{\delta_{TK1}A_{PM}}{A_{PM} + \delta_{TK2}} \quad (3.46)$$

$$\pi_B(A_{PM} + hT_{HE}) = \frac{\pi_{B1} \times (A_{PM} + hT_{HE})}{A_{PM} + hT_{HE} + \pi_{B2}} \quad (3.47)$$

$$\rho_B(A_{PM} + hT_{HE}) = \frac{\rho_{B1} \times (A_{PM} + hT_{HE})}{A_{PM} + hT_{HE} + \rho_{B2}} \quad (3.48)$$

$$\pi_{B_M}(A_{PM} + hT_{HE}) = \frac{\pi_{B_M1} \times (A_{PM} + hT_{HE})}{A_{PM} + hT_{HE} + \pi_{B_M2}} \quad (3.49)$$

$$\pi_{PB_M}(B_M) = \frac{\pi_{PB_M1}B_M}{B_M + \pi_{PB_M2}} \quad (3.50)$$

$$\alpha_{TK_E}(A_{PM}) = \frac{\alpha_{TK1}A_{PM}}{A_{PM} + \alpha_{TK2}} \quad (3.51)$$

Tabela 3.3: Parâmetros das funções usadas no modelo

Parâmetro	Unidade	Valor
$\pi_{V1}$	(dia <sup>-1</sup> )	1,9***
$\pi_{V2}$	Número de células	0,5***
$\alpha_{TK1}$	(cm <sup>3</sup> dia <sup>-1</sup> )	0,05***
$\alpha_{TK2}$	Número de células	1,0***
$\pi_{TH1}$	(dia <sup>-1</sup> )	1,5*
$\pi_{TH2}$	Número de células	10 <sup>2</sup> *
$\rho_{TH1}$	(dia <sup>-1</sup> )	1,51*
$\rho_{TH2}$	Número de células	4x10 <sup>3</sup> *
$\delta_{TH1}$	(dia <sup>-1</sup> )	0,4*
$\delta_{TH2}$	Número de células	1,0*
$\pi_{TK1}$	(dia <sup>-1</sup> )	3,0*
$\pi_{TK2}$	Número de células	10 <sup>2</sup> *
$\rho_{TK1}$	(dia <sup>-1</sup> )	2,6*
$\rho_{TK2}$	Número de células	4x10 <sup>3</sup> *
$\delta_{TK1}$	(dia <sup>-1</sup> )	0,75*
$\delta_{TK2}$	Número de células	1,0*
$\pi_{B1}$	(dia <sup>-1</sup> )	3,0*
$\pi_{B2}$	Número de células	10 <sup>4</sup> *
$\rho_{B1}$	(dia <sup>-1</sup> )	2,6*
$\rho_{B2}$	Número de células	4x10 <sup>3</sup> *
$\pi_{BM1}$	(dia <sup>-1</sup> )	100,0***
$\pi_{BM2}$	Número de células	10 <sup>4</sup> ***
$\pi_{PBM1}$	(dia <sup>-1</sup> )	50,0***
$\pi_{PBM2}$	Número de células	1,0***
$h$	-	0,01**

\* Valores extraídos de Lee *et al.* (2009)

\*\* Parâmetros que tiveram seus valores originais modificados

\*\*\* Parâmetros adicionados

### 3.4 Implementação e ambiente computacional

Para resolução do sistema de EDOs foi implementado um código em linguagem Python. Algumas vantagens oferecidas pela linguagem foram importantes para a escolha. A linguagem Python é livre e está disponível em versões para Windows e Linux, mas a principal vantagem considerada foi a variedade de bibliotecas que oferecem ferramentas para a resolução de complexos cálculos matemáticos de forma eficiente e facilmente

codificável. As rotinas contidas nessas bibliotecas são, em geral, desenvolvidas nas linguagens C ou Fortran. A biblioteca escolhida foi a *scipy* (Odeint, 2014). Essa biblioteca possui um pacote chamado *integrate* com algumas funções para cálculos de integrais como, por exemplo, integrais duplas e triplas. Este pacote também possui uma função chamada *odeint* e foi escolhida para ser usada neste trabalho pois é capaz de resolver numericamente um sistemas de EDOs. A escolha do método numérico a ser usado é feita de forma automática pela função baseando-se nas características das equações. O método BDF (*Backward Differentiation Formulae*) é usado para equações *stiff* e o método de Adams (LeVeque, 2007) caso contrário. Segundo Akai (1994) “...equações *stiff* são aquelas cujas soluções contêm escalas significativamente diferentes para a variável independente. Quando a maior escala é de interesse, mas a menor escala dita o passo de tempo do método com base na estabilidade, a equação é *stiff*.” Frequentemente, esses problemas ocorrem em sistemas de equações diferenciais que envolvem vários componentes que estão decaindo a taxas muito diferentes. As escolhas do passo de integração e da ordem de convergência utilizam um esquema adaptativo.

### 3.4.1 Métodos BDF

Os métodos BDF são uma família de métodos implícitos para a integração numérica de EDOs. Eles são métodos lineares multipasso que, para uma determinada função e tempo, aproximam a derivada dessa função por expressões de diferenças finitas regressivas, usando informações de passos anteriores. Estes métodos são usados para resolver problemas de valor inicial. Dada a EDO

$$y'(x) = f(t, y), \quad (3.52)$$

com a condição inicial

$$y_{t_0} = y_0 \quad (3.53)$$

a fórmula geral para os métodos BDF é dada pela equação

$$\sum_{k=0}^s a_k y_{n+k} = h\beta f(t_{n+s}, y_{n+s}), \quad (3.54)$$

onde  $h$  representa o passo de tempo,  $t_n = t_0 + nh$ . Os coeficientes  $a_k$  e  $\beta$  são escolhidos de acordo com a ordem, onde o máximo é  $s$ . As Equações de (3.55) a (3.60) apresentam a formulação para os métodos BDF de ordem 1 a 6, respectivamente. O método de ordem 1 desta família é também conhecido com *Backward Euler Method*.

BDF de ordem 1:

$$y_{n+1} - y_n = hf(t_{n+1}, y_{n+1}) \quad (3.55)$$

BDF de ordem 2:

$$y_{n+2} - \frac{4}{3}y_{n+1} + \frac{1}{3}y_n = \frac{2}{3}hf(t_{n+2}, y_{n+2}) \quad (3.56)$$

BDF de ordem 3:

$$y_{n+3} - \frac{18}{11}y_{n+2} + \frac{9}{11}y_{n+1} - \frac{2}{11}y_n = \frac{6}{11}hf(t_{n+3}, y_{n+3}) \quad (3.57)$$

BDF de ordem 4:

$$y_{n+4} - \frac{48}{25}y_{n+3} + \frac{36}{25}y_{n+2} - \frac{16}{25}y_{n+1} + \frac{3}{25}y_n = \frac{12}{25}hf(t_{n+4}, y_{n+4}) \quad (3.58)$$

BDF de ordem 5:

$$y_{n+5} - \frac{300}{137}y_{n+4} + \frac{300}{137}y_{n+3} - \frac{200}{137}y_{n+2} + \frac{75}{137}y_{n+1} - \frac{12}{137}y_n = \frac{60}{137}hf(t_{n+5}, y_{n+5}) \quad (3.59)$$

BDF de ordem 6:

$$y_{n+6} - \frac{360}{147}y_{n+5} + \frac{450}{147}y_{n+4} - \frac{400}{147}y_{n+3} + \frac{225}{147}y_{n+2} - \frac{72}{147}y_{n+1} + \frac{10}{147}y_n = \frac{60}{147}hf(t_{n+6}, y_{n+6}) \quad (3.60)$$

### 3.4.2 Métodos de Adams

Os métodos de Adams usam informações de múltiplos passos da solução para obter a solução no próximo passo. O método de Adams pode ser explícito (quando a solução do próximo passo depende apenas de informações já obtidas), chamado de Adams-Bashforth, ou implícito (quando a solução do próximo passo depende de informações dele mesmo, que ainda não foram obtidas), chamado de Adams-Moulton. O método usado pela função *odeint* é o Adams-Moulton.

Seja a EDO:

$$Y'(x) = f(x, Y(x)) \quad (3.61)$$

Deseja-se conhecer  $Y(x)$ , para isso, deve-se integrar no intervalo  $[x_n, x_{n+1}]$ , obtendo:

$$\int_{x_n}^{x_{n+1}} Y'(x) dx = \int_{x_n}^{x_{n+1}} f(x, Y(x)) dx \quad (3.62)$$

Sendo que

$$Y(x_{n+1}) = Y(x_n) + \int_{x_n}^{x_{n+1}} f(x, Y(x)) dx \quad (3.63)$$

e dado que

$$g(x) = f(x, Y(x)) \quad (3.64)$$

para encontrar a função  $Y(x)$  deve-se usar um método numérico que aproxime a função. O método de Adam-Moulton faz isso usando um polinômio interpolador e então integra o polinômio. Considerando o caso em que se usa o polinômio linear  $p_1(x)$  para interpolar  $g(x)$  em  $x_n$  e  $x_{n+1}$  temos

$$p_1(x) = \frac{1}{h}[(x_{n+1} - x)g(x) + (x - x_n)g(x_{n+1})] \quad (3.65)$$

Usando o polinômio acima para aproximar  $g(x)$  e integrar tem-se

$$\int_{x_n}^{x_{n+1}} g(x) dx \approx \int_{x_n}^{x_{n+1}} p_1(x) dx = \frac{h}{2}[g(x_n) - g(x_{n+1})] \quad (3.66)$$

Aplicando (3.66) à formulação integral (3.63) e incluindo o termo de erro obtém-se

$$Y(x_{n+1}) = Y(x_n) + \frac{h}{2}[f(x_n, Y(x_n)) + f(x_{n+1}, Y(x_{n+1}))] - \frac{h^3}{12}Y'''(\xi_n) \quad (3.67)$$

Desprezando o termo do erro, obtém-se a aproximação para o próximo passo dada pela Equação (3.68)

$$Y(x_{n+1}) \approx Y(x_n) + \frac{h}{2}[f(x_n, Y(x_n)) + f(x_{n+1}, Y(x_{n+1}))] \quad (3.68)$$

## 4 RESULTADOS

Este capítulo apresenta um panorama geral dos experimentos numéricos que foram realizados bem como dos resultados obtidos. Apresenta também uma análise de sensibilidade dos parâmetros que eram do modelo de Lee *et al.* (2009) e que tiveram seus valores alterados. Finalmente tem-se uma breve discussão sobre essa análise e a importância de cada parâmetro nos resultados.

Foram avaliados dois cenários: o primeiro considera um indivíduo sendo vacinado, pela primeira vez, contra a FA e o segundo simula uma reexposição antigênica através de uma dose reforço da vacina após dez anos.

Os experimentos foram realizados utilizando a versão 2.7.3 do Python no *software* Spyder em um ambiente com processador Intel Core i3-M330 2.13 GHz, com 4 GB de memória RAM. O sistema operacional é uma versão 64-bits do Linux 3.11.10-100.fc18. Os resultados destes experimentos são apresentados nas próximas seções.

### 4.1 Primeira vacinação

Esta seção apresenta os resultados obtidos com a simulação computacional de um indivíduo que foi vacinado pela primeira vez contra FA.

As Figuras 4.1 e 4.2 mostram os resultados obtidos pela simulação do modelo matemático. Pode-se observar que os resultados numéricos obtidos para a população de anticorpos coincidem com os resultados experimentais obtidos em Kay *et al.* (2011), levando-se em conta que os valores apresentados são uma média geométrica dos valores obtidos de diversos indivíduos, expressos em GMT (*Geometric Mean Titers*). Vale ressaltar que para que ficasse clara a comparação com os dados experimentais, foram simulados apenas 300 dias, já que o último ponto foi obtido com 250 dias. Além disso, a curva de viremia é compatível com resultados qualitativos obtidos em Monath *et al.* (2013): valores de pico encontrados por volta do terceiro dia e eliminação completa do vírus no sétimo dia. A Tabela 4.1 apresenta os valores referentes aos dados experimentais

mostrados na Figura 4.1.

Tabela 4.1: Dados experimentais extraídos de Kay *et al.* (2011)

Tempo desde a vacinação	GMT <sup>a</sup>
21 dias	6450,796
250 dias	1246,327

<sup>a</sup> *Geometric Mean Titers*

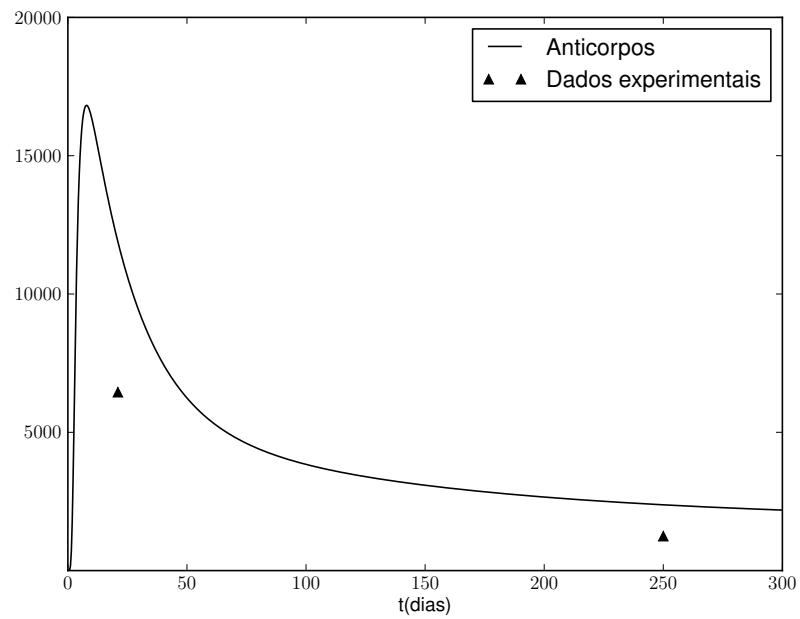


Figura 4.1: Curva de anticorpos gerada pelo modelo e dados experimentais extraídos de Kay *et al.* (2011)



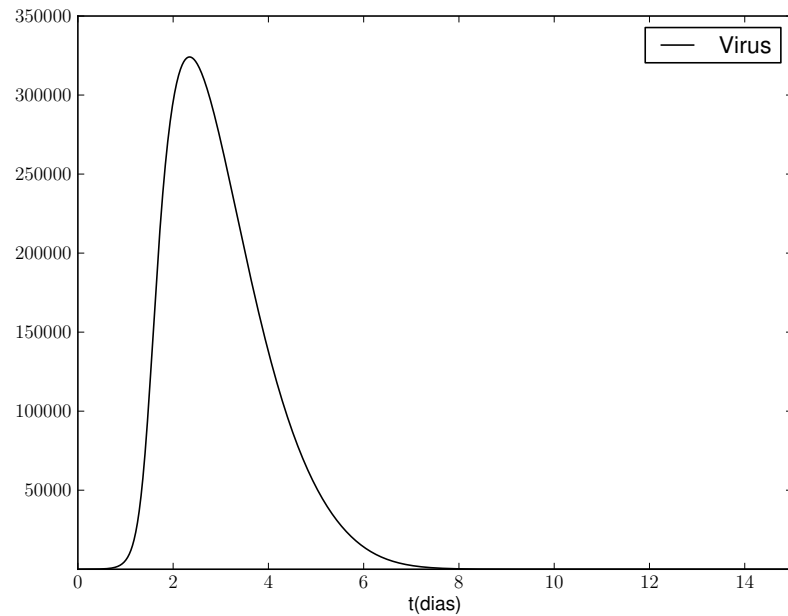


Figura 4.2: A curva de viremia exibe resultados compatíveis com dados qualitativos encontrados em Monath *et al.* (2013)

Foram feitas simulações de 5000 dias para comparar a curva obtida com outros dados experimentais obtidos em Collaborative group (2014) e o resultado é apresentado na Figura 4.3. Os níveis de anticorpos estão em GMT e são referentes a intervalos de tempo após a vacinação. Os valores do tempo usados no gráfico foram obtidos fazendo a média entre os tempos de cada intervalo. Por exemplo, o primeiro ponto era do intervalo entre 30 e 45 dias pós-vacinação, o valor usado foi 37 dias, o nível de anticorpos correspondente foi 8762,8. Também foram colocados no gráfico os menores e maiores valores para o nível de anticorpos e os tempos, inicial e final, de cada intervalo.

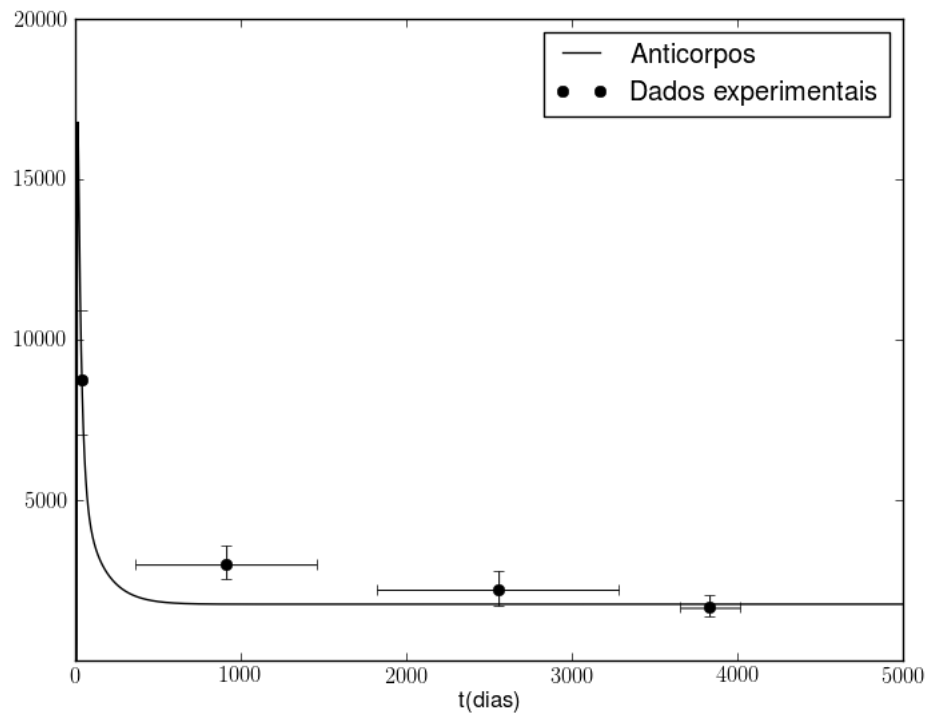


Figura 4.3: Curva de anticorpos gerada pelo modelo e dados experimentais extraídos de Collaborative group (2014). Para cada ponto experimental também são mostrados o menor e o maior valor encontrados para o nível de anticorpos, além do início e do fim do intervalo de tempo

A Tabela 4.2 mostra os valores obtidos em Collaborative group (2014) e como eles foram usados neste trabalho.

Tabela 4.2: Dados experimentais extraídos de Collaborative group (2014)

Tempo desde a vacinação	Tempo usado na simulação	GMT <sup>a</sup>	Limite inferior <sup>b</sup>	Limite superior <sup>c</sup>
30 – 45 dias	37 dias	8762,8	7042,6	10903,1
1 – 4 anos (365-1460 dias)	912 dias	3007,5	2535,7	3567,8
5 – 9 anos (1825-3285 dias)	2555 dias	2194,8	1725,4	2791,3
10 – 11 anos (3650-4015 dias)	3832 dias	1661,9	1362,4	2026,7
≥ 12 anos	-	2123,1	1787,0	2522,5

<sup>a</sup> Geometric Mean Titers

<sup>b</sup> Limite inferior do intervalo de confiança

<sup>c</sup> Limite superior do intervalo de confiança

Os valores vinham decrescendo até o intervalo de 10 a 11 anos. Após isso, o valor teve um aumento (passou de 1661,9 para 2123,1). Segundo Collaborative group (2014), isso ocorreu possivelmente devido a diferenças na vacina e a casos de múltipla vacinação não registrados ou não relatados. Como esta situação não está no contexto do modelo, este último valor não foi utilizado.

Os dados experimentais dos dois estudos Kay *et al.* (2011) e Collaborative group (2014) foram obtidos usando o mesmo teste, o PRNT. O estudo de (Collaborative group, 2014) explicita a unidade usada (IU/ml - *International Units*), enquanto que o estudo de (Kay *et al.*, 2011) diz apenas que os valores estão expressos em GMT, sem dizer a unidade. Os valores divergem um pouco mas ficam na mesma ordem de grandeza, isto pode estar relacionado às diferenças entre as unidades, as vacinas ou entre os indivíduos. Os valores obtidos pela simulação do modelo ficam entre os valores experimentais, como pode ser visto na Figura 4.4.

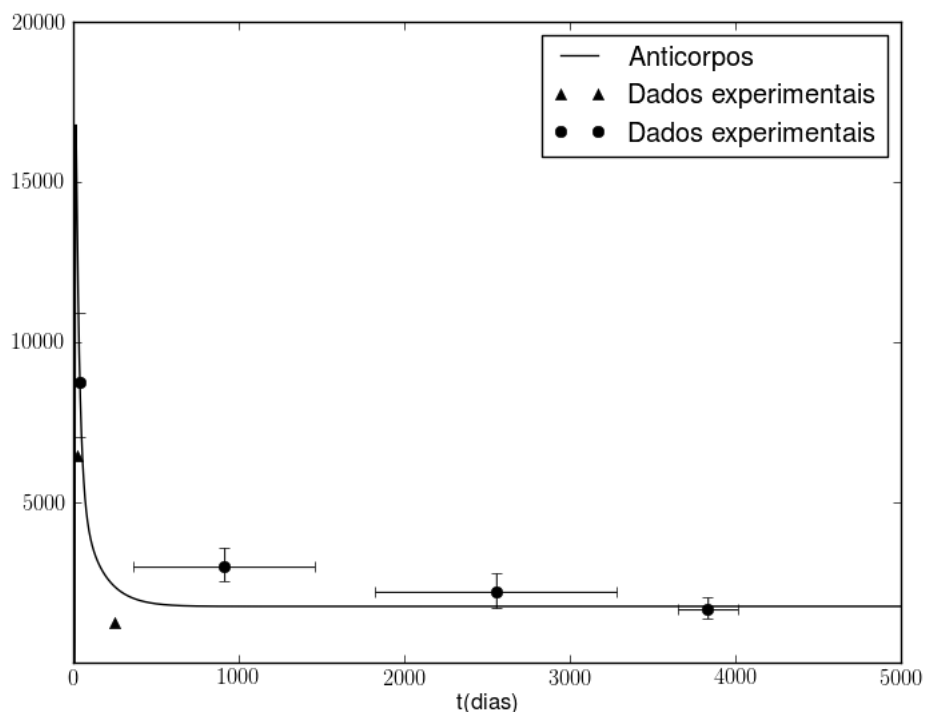


Figura 4.4: Curva de anticorpos gerada pela simulação de 5000 dias do modelo e dados experimentais extraídos de Kay *et al.* (2011)(▲) e Collaborative group (2014) (●)

A Figura 4.5 mostra o mesmo resultado da Figura 4.4, mas em uma escala de tempo menor a fim de facilitar a visualização dos dois primeiros pontos.

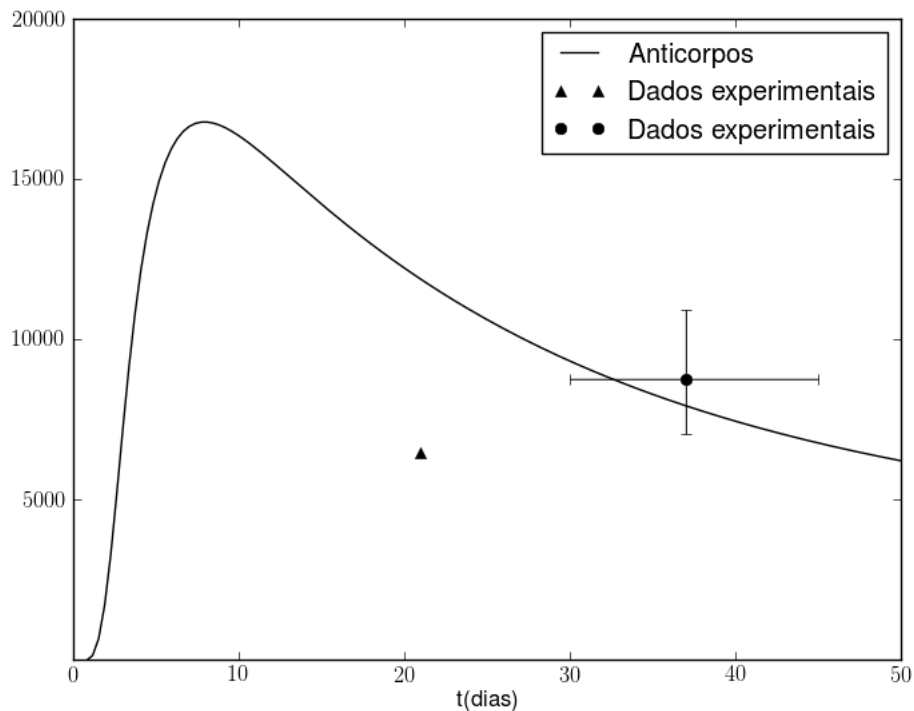


Figura 4.5: Curva de anticorpos gerada pela simulação de 50 dias do modelo. Dados experimentais extraídos de Kay *et al.* (2011)(▲) e Collaborative group (2014) (●)

As Figuras 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 mostram as curvas de outras populações consideradas no modelo. Não foram encontrados dados experimentais compatíveis com as unidades usadas no modelo para tais populações, por essa razão, apenas o comportamento qualitativo foi avaliado.

A Figura 4.6 apresenta as curvas das células do local de aplicação da vacina (infectadas e não infectadas). As células não infectadas partem de sua condição inicial,  $5 \times 10^5$ , e vão diminuindo à medida que tornam-se infectadas. Como consequência, as células infectadas, que eram 0 (zero) no início, aumentam, atingem seu pico e são eliminadas em poucos dias. As células não infectadas tendem a voltar para o valor inicial, mantendo o equilíbrio, ou homeostase, do organismo.

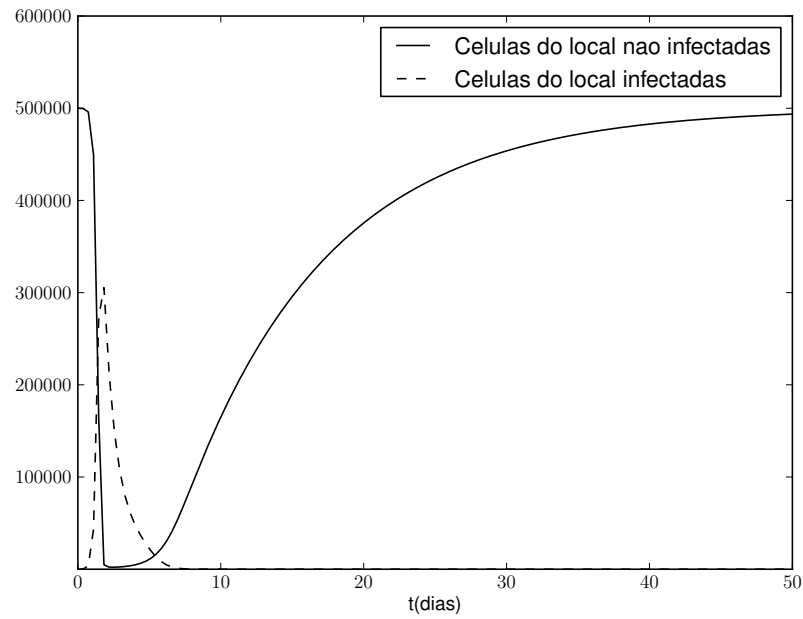


Figura 4.6: Curvas de células do local de inoculação do vírus vacinal

A Figura 4.7 mostra a curva de APCs maduras, aquelas que estão aptas a ativarem outras células como os linfócitos T e B. As APCs maduras partem de sua condição inicial, 0 (zero), aumentam rapidamente para que a resposta adaptativa entre em ação e diminuem logo após a infecção ter sido controlada, voltando ao seu estado inicial. Apenas 15 dias são mostrados no gráfico porque é neste período que ocorre todo o comportamento descrito anteriormente.

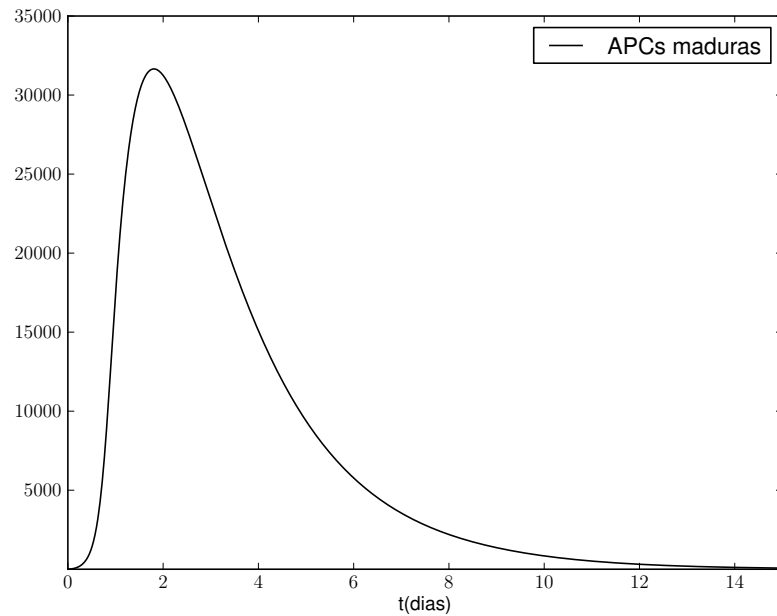


Figura 4.7: Curva de APCs maduras

A Figura 4.8 mostra a dinâmica das células T CD4+ efetoras. No início a quantidade é zero pois só existem células virgens. Após a apresentação do antígeno, as células virgens se ativam e tornam-se efetoras. Após o controle da infecção, a quantidade não volta a zero pois uma parte dessas células tornam-se células de memória e ficam em “repouso” aguardando um novo contato com o mesmo vírus. Este gráfico mostra apenas 50 dias de simulação porque apresenta um comportamento estacionário, que não vai ser alterado a partir deste ponto, a menos que haja alguma modificação, como é o caso da revacinação que será mostrada na próxima seção. Foi usada a escala logarítmica no eixo Y para facilitar a visualização da grande variação que existe entre a condição inicial, o pico e o estado estacionário.

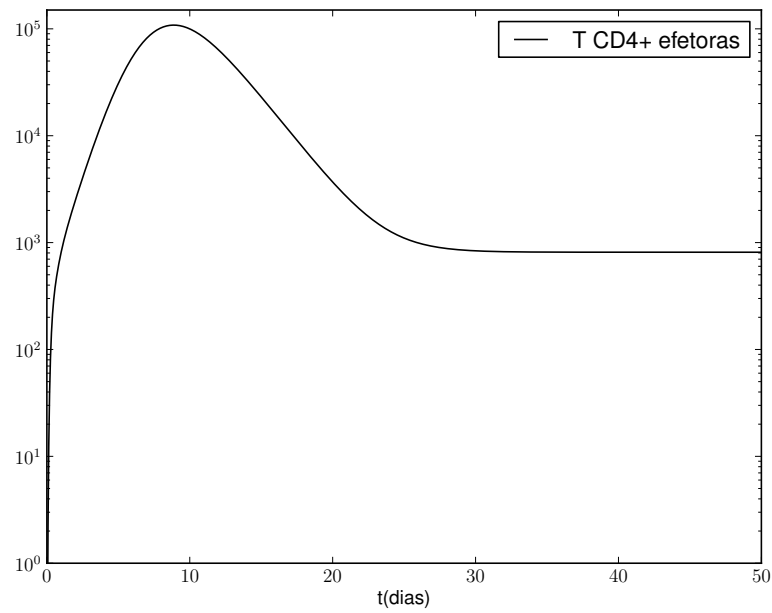


Figura 4.8: Curva de células T CD4+ (*helper*)

A Figura 4.9 mostra a dinâmica do total de células T CD8+ efectoras, somando as que estão no local de aplicação e as que estão no compartimento linfático. Esta curva apresenta o mesmo comportamento descrito para as células T CD4+.

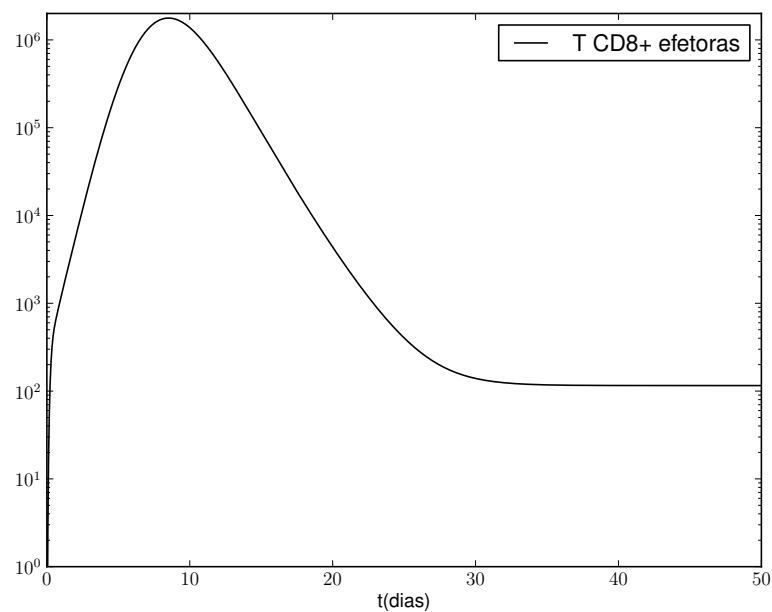


Figura 4.9: Curva de células T CD8+ (*killer*)

A Figura 4.10 mostra a dinâmica das células B, ativas e de memória. As células B ativas partem de zero, e após terem se diferenciado em células do plasma e de memória voltam ao estado original. As células de memória também partem de zero, mas não voltam a este estágio, elas mantêm um nível estacionário, que será importante caso haja uma nova exposição ao mesmo antígeno. Pelo mesmo motivo das curvas de células T CD4+ e CD8+, esta curva também apresenta o eixo Y em escala logarítmica.

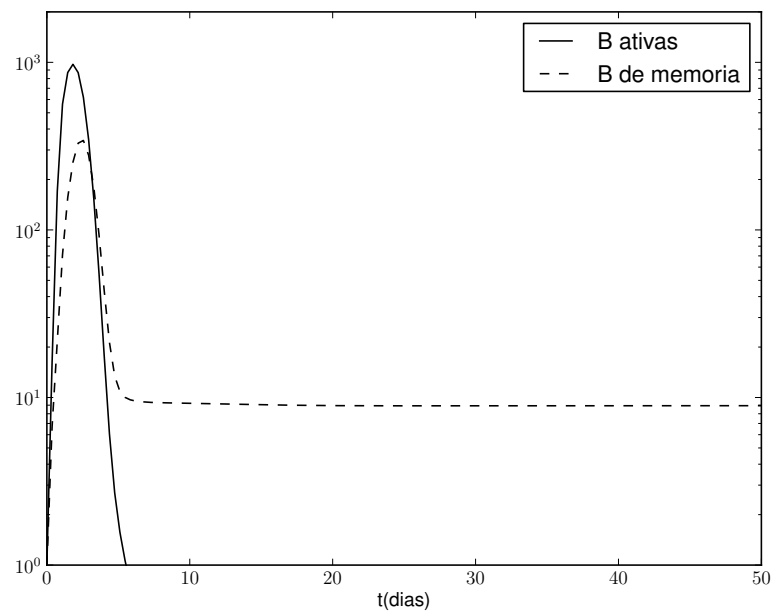


Figura 4.10: Curvas de células B ativas e de memória

A Figura 4.11 mostra a dinâmica das células do plasma, de vida curta e vida longa. As de vida curta são responsáveis por uma produção em massa de anticorpos, mas permanecem por pouco tempo no organismo. Já as células do plasma de vida longa produzem menores quantidades de anticorpos por longos períodos de tempo. Por motivos já descritos anteriormente, esta curva apresenta o eixo Y em escala logarítmica.



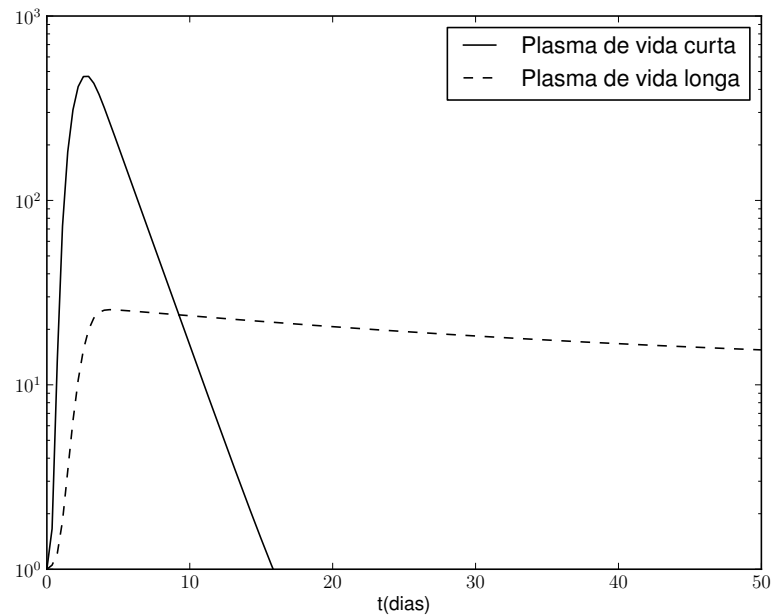


Figura 4.11: Curvas de células do plasma

## 4.2 Revacinação

Esta seção apresenta os resultados obtidos com a simulação de um indivíduo que foi re-exposto ao vírus da FA através de uma segunda vacinação. Não foram encontrados dados experimentais compatíveis com os padrões e unidades usados no modelo, por este motivo, apenas o comportamento qualitativo foi analisado.

Após 3650 dias (10 anos), a mesma quantidade de vírus introduzida na primeira vacinação é reintroduzida no modelo. É esperado, de um modo geral, que haja uma nova resposta do sistema imune capaz de eliminar o vírus de modo mais rápido devido, principalmente, aos anticorpos e às células de memória (T CD4+, T CD8+ e B). A Figura 4.12 apresenta a curva de anticorpos para os 5000 dias de simulação. É possível notar que após a reinjeção do vírus há um aumento no nível dos anticorpos para auxiliar no combate, de forma mais rápida, à infecção. Em seguida, quando a situação volta ao normal, o nível de anticorpos também volta ao seu estado de equilíbrio, suficiente para proteger o indivíduo. Este comportamento ainda não está totalmente de acordo com o esperado. De modo geral, espera-se que a resposta à revacinação seja mais intensa e que

os níveis de anticorpos sejam mantidos altos por mais tempo quando comparados aos da primeira vacinação devido, principalmente, à memória imunológica.

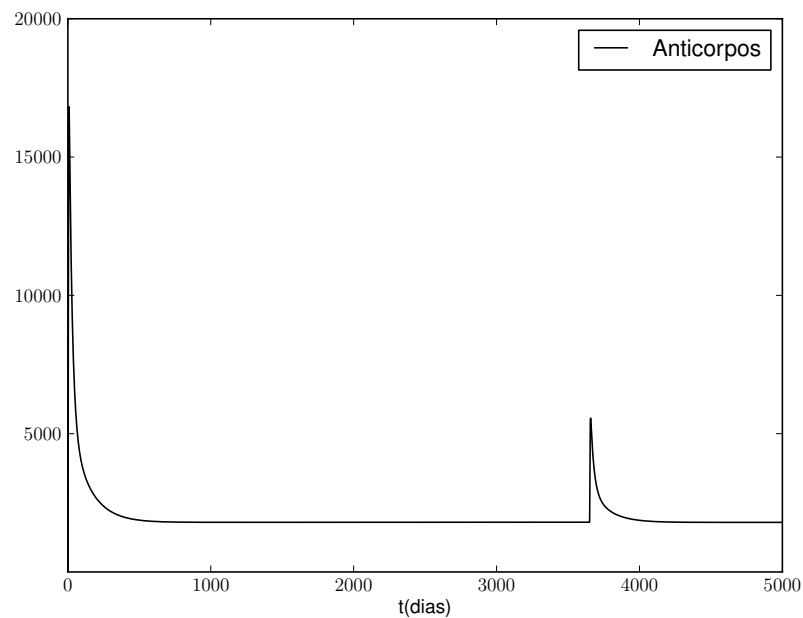


Figura 4.12: Curva de anticorpos gerada pela simulação de 5000 dias do modelo

A Figura 4.13 apresenta a curva de viremia 15 dias após a reinjeção. É possível perceber que, na segunda vacinação, o vírus atinge um pico menor. Isso está de acordo com o esperado porque o organismo já possui a memória imunológica, ou seja, já teve contato com o vírus e é capaz de desenvolver uma resposta mais rápida e específica. Os principais responsáveis por isso são os anticorpos e as células T e B de memória. Em geral a viremia não é detectável em indivíduos revacinados Monath *et al.* (2013).

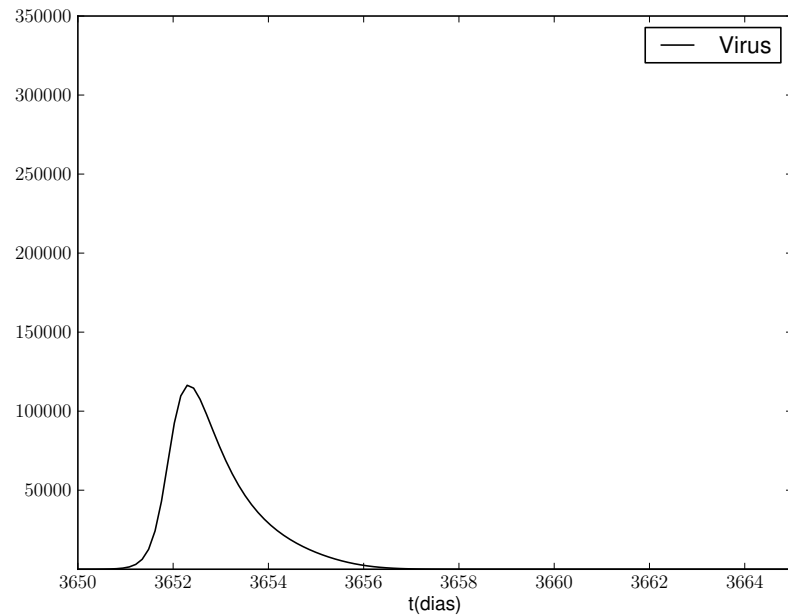


Figura 4.13: Curva de viremia após a segunda dose da vacina

A Figura 4.14 mostra as duas curvas de viremia, para a primeira e a segunda vacinação, a fim de facilitar a comparação dos resultados.

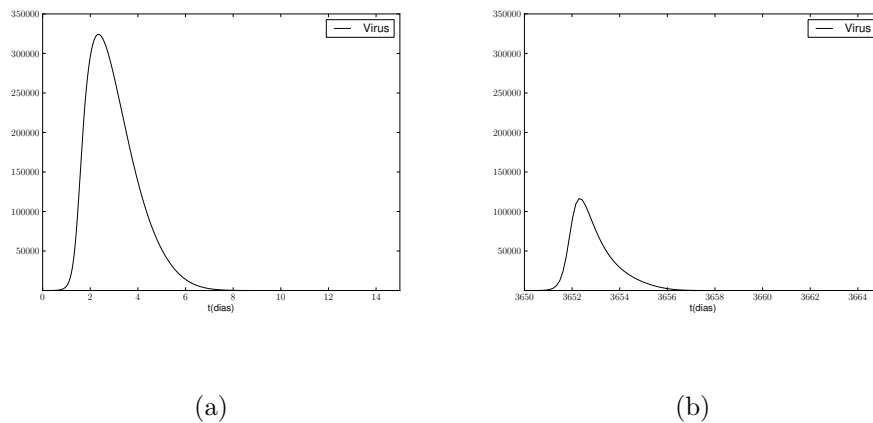


Figura 4.14: Curvas de viremia a) 15 dias após a primeira vacinação b) 15 dias após a revacinação

As Figuras de 4.15 a 4.19 apresentam os gráficos do comportamento de outras populações consideradas no modelo de 50 dias antes até 50 dias depois da reinjeção.

A Figura 4.15 apresenta as curvas das células do local de aplicação da vacina. As

células não infectadas mantinham um nível referente ao seu estado de equilíbrio, após a reinjeção, esse nível diminui devido à infecção destas células pelo vírus vacinal. O comportamento é praticamente igual ao descrito para a primeira vacinação, o que não é ideal. Como foi mostrado, o segundo pico de viremia é menor que o primeiro, ou seja, existem menos vírus no local. Sendo assim, era esperado que, com menos vírus, houvesse menos células infectadas, o que não ocorreu. Acredita-se que isso foi devido ao fato de as células T CD8+ de memória não terem sido consideradas em uma população separada, assim como foi feito com as células B. As células de memória se ativam de forma mais rápida, pois já “conhecem” o antígeno, e isso não foi considerado no modelo original. Este trabalho fez uma pequena modificação nesta população para que fosse possível a simulação das células de memória. Pretende-se melhorar este aspecto criando uma população separada para as células T CD8+ de memória e ajustando a taxa de ativação destas células. Dessa forma, quando houver uma revacinação, as células T CD8+ de memória se ativarão mais rápido, migrarão para o local da inoculação e impedirão a infecção de tantas células.

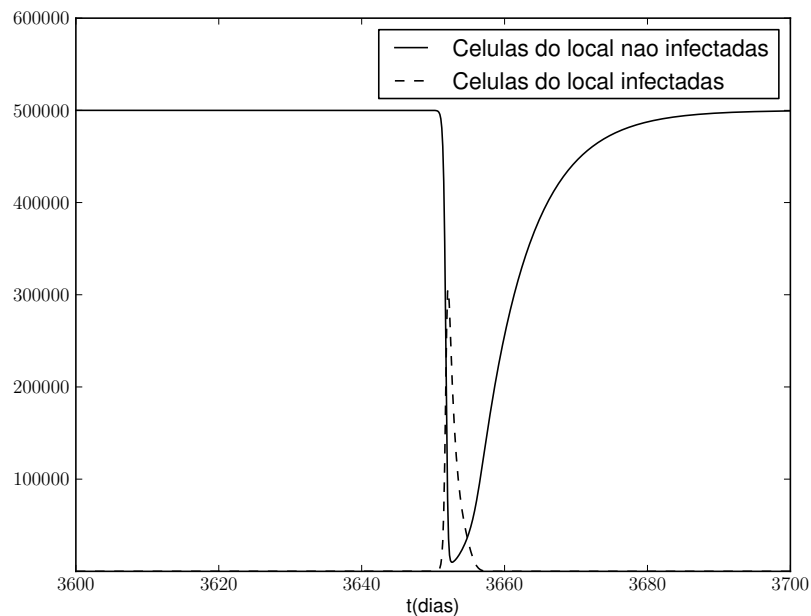


Figura 4.15: Curva de células do local de inoculação do vírus

A Figura 4.16 apresenta a curva de células T CD4+ efectoras. As células mantinham

um nível estacionário, tiveram um aumento devido a ativação das células T CD4+ virgens e também à reativação das células de memória. Após o controle da infecção, essas células voltam ao nível estacionário, que agora é discretamente maior do que o anterior. Isso faz sentido porque é possível que haja um “reforço” desse nível quando há uma reexposição antigênica.

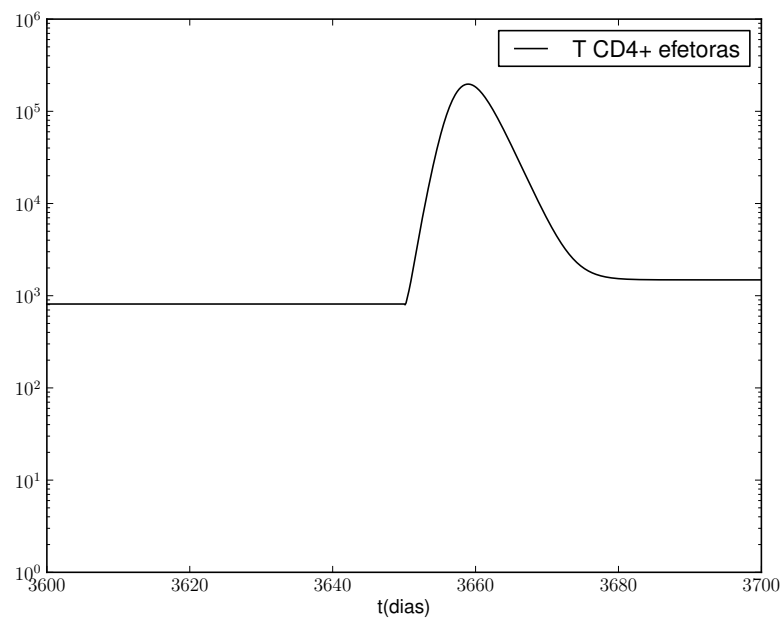


Figura 4.16: Curva de células T CD4+ (*helper*)

A Figura 4.17 apresenta a curva de células T CD8+ efectoras. Essa curva tem um comportamento semelhante ao descrito anteriormente para as células T CD4+, com a diferença de que as T CD8+ mantêm o nível estacionário igual ao que tinham antes da reexposição.

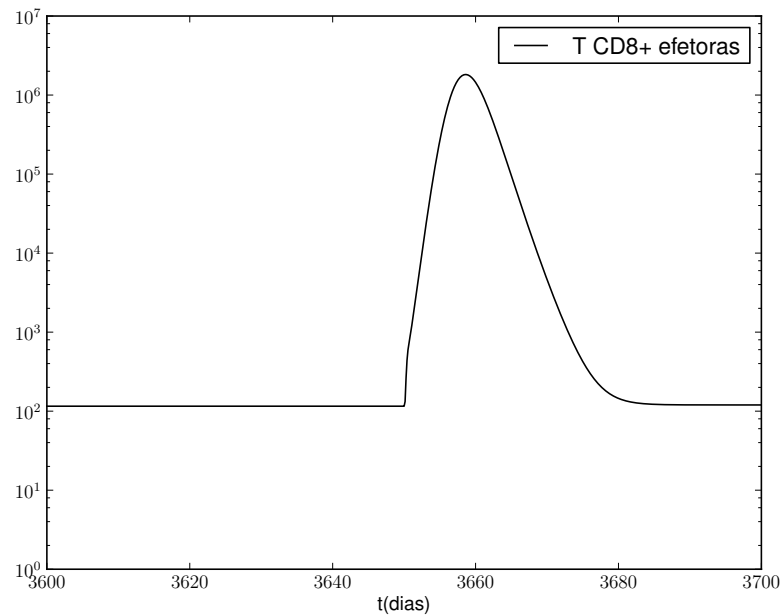


Figura 4.17: Curva de células T CD8+ (*killer*)

A Figura 4.18 apresenta as curvas das células B ativas e de memória. A população de células B ativas era nula desde que a primeira infecção foi controlada. Quando houve uma reexposição, as células B virgens se ativaram e as células B de memória se reativaram, fazendo com que a curva de B ativas aumentasse. Após o controle da segunda infecção, a curva diminuiu até a quantidade ser zerada. Já as células B de memória vinham mantendo um nível estacionário, se reativaram rapidamente, auxiliaram no combate à infecção e voltaram para o estado de equilíbrio.

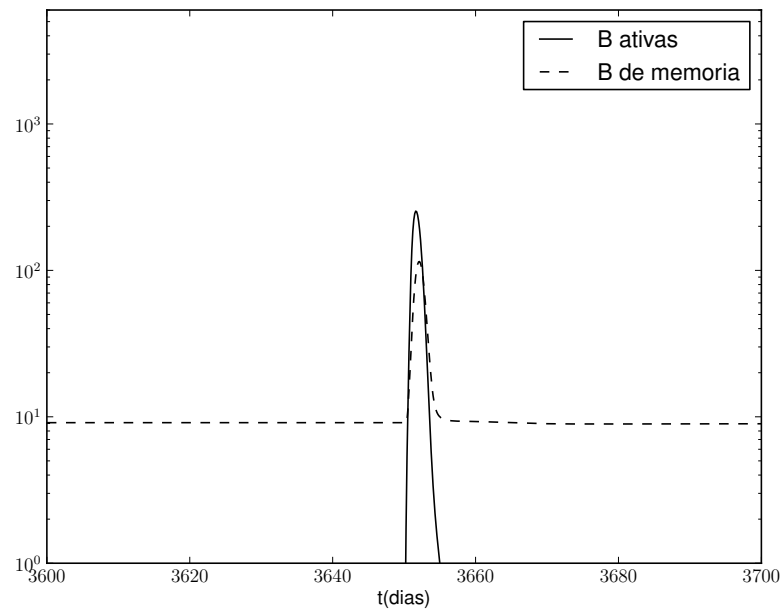


Figura 4.18: Curvas de células B

A Figura 4.19 mostra as curvas das células do plasma de vida curta e vida longa. O nível de células de vida curta era 0 (zero), houve uma produção dessas células pelas células B ativas, e esse nível então subiu. Como elas são de vida curta, em alguns dias sua quantidade voltou a ser zero. Já as de vida longa mantinham um nível estacionário, tiveram um leve aumento para auxiliar na produção de anticorpos e voltaram para o equilíbrio.

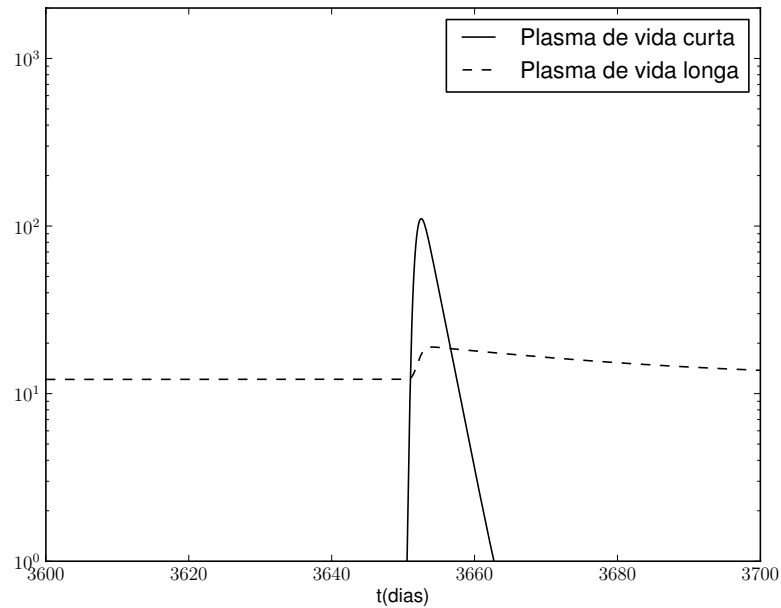


Figura 4.19: Curvas de células do plasma

### 4.3 Análise de sensibilidade

Algumas alterações nos valores dos parâmetros vindos do modelo de Lee *et al.* (2009) foram feitas para ajustar os resultados numéricos com os dados experimentais disponíveis em Kay *et al.* (2011) e Collaborative group (2014). Por esse motivo, foi realizada uma análise de sensibilidade dos parâmetros modificados,  $\delta_{BA}$ ,  $\pi_S$ ,  $\delta_S$ ,  $\pi_{AS}$ ,  $\pi_{AL}$ ,  $\delta_{LN}$  e  $h$ . Segundo Saltelli *et al.* (2008), a análise de sensibilidade identifica o impacto causado pela variação dos parâmetros e das condições iniciais do modelo matemático nas variáveis dependentes. Se uma pequena mudança em um parâmetro é responsável por uma mudança drástica no resultado do problema, isto significa que o problema é sensível a esse parâmetro em particular. Caso contrário, esse parâmetro tem baixo impacto no modelo. Essa análise é usada para ajudar no entendimento do modelo matemático pois permite a identificação dos parâmetros que são mais relevantes, isto é, os valores destes parâmetros devem ser cuidadosamente modificados.

Esta seção apresenta uma abordagem de força bruta para examinar a influência dos 7 parâmetros cujos valores foram modificados. Uma pequena mudança no valor de cada



parâmetro foi feita e então o modelo foi novamente resolvido para esse novo conjunto de parâmetros. Os valores dos parâmetros foram variados de -50% a +50% (em intervalos de 25%) a partir de seus valores originais. Os valores ditos originais nas legendas são aqueles mantidos após o ajuste usando os dados experimentais e não os valores obtidos em Lee *et al.* (2009). Para cada parâmetro serão mostradas as curvas de anticorpos e vírus, pois são as populações de maior interesse e sobre as quais se tem maiores informações referentes ao comportamento.

O primeiro parâmetro modificado foi  $\delta_{B_A}$ . Este parâmetro afeta indiretamente o nível de anticorpos já que ele representa a taxa de morte das células B ativas ( $B_A$ ). Assim, se  $\delta_{B_A}$  tiver seu valor aumentado, haverá menos  $B_A$  se diferenciando em  $P_S$  e  $P_L$  e conseqüentemente menos anticorpos sendo secretados. Após o ajuste, este valor foi diminuído de 0,9 para 0,5. As Figuras 4.20 e 4.21 apresentam as curvas de vírus e anticorpos, respectivamente, para os diferentes valores de  $\delta_{B_A}$  usados na análise de sensibilidade. Como esperado, as mudanças neste parâmetro quase não afetam a curva de viremia mas afetam a curva de anticorpos, já que este parâmetro altera o nível de células B ativas, que se diferenciam em células do plasma que, por sua vez, produzem anticorpos.

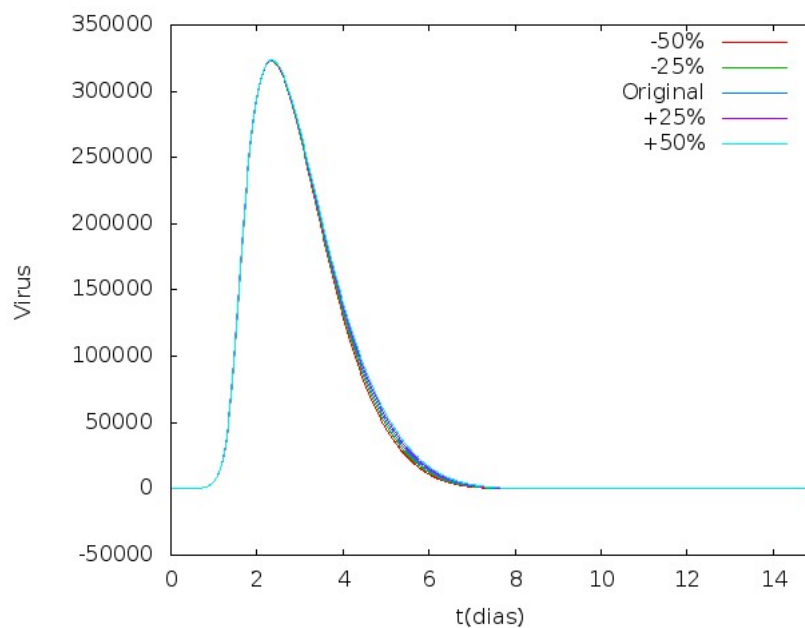


Figura 4.20: Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\delta_{B_A}$  (taxa de morte das células B ativas)

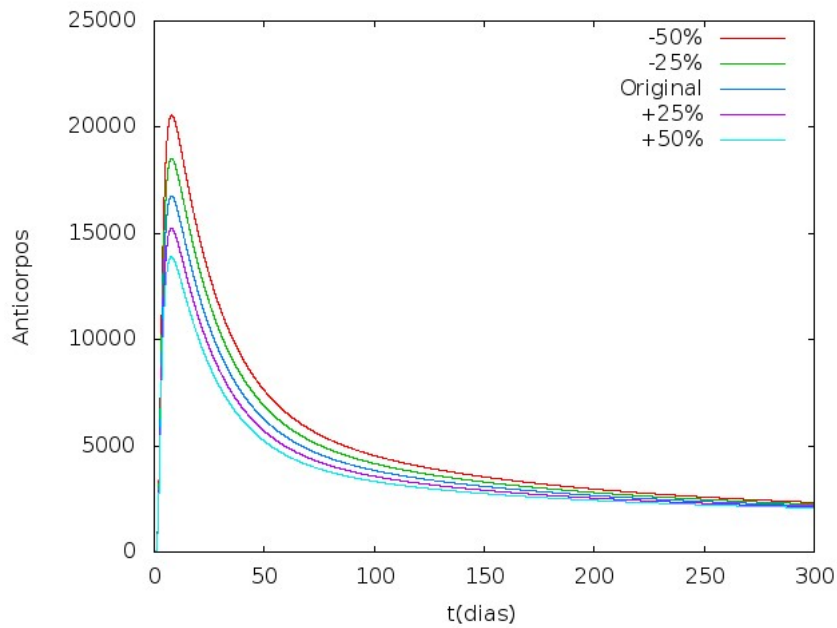


Figura 4.21: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\delta_{BA}$  (taxa de morte das células B ativas)

O segundo parâmetro modificado foi  $\pi_S$ , que representa a taxa de diferenciação das células B ativas em células do plasma de vida curta. Este parâmetro teve seu valor aumentado de 0,001 para 0,5. Com o aumento no valor de  $\pi_S$ , mais células B ativas estarão se diferenciando em células do plasma de vida curta e conseqüentemente mais anticorpos estarão sendo secretados. As Figuras 4.22 e 4.23 apresentam as curvas de vírus e anticorpos, respectivamente, para os diferentes valores de  $\pi_S$  usados na análise de sensibilidade. É possível notar que não houve uma mudança significativa no comportamento da curva de vírus. Já na curva de anticorpos houve uma variação relevante em relação ao valor atingido no pico.

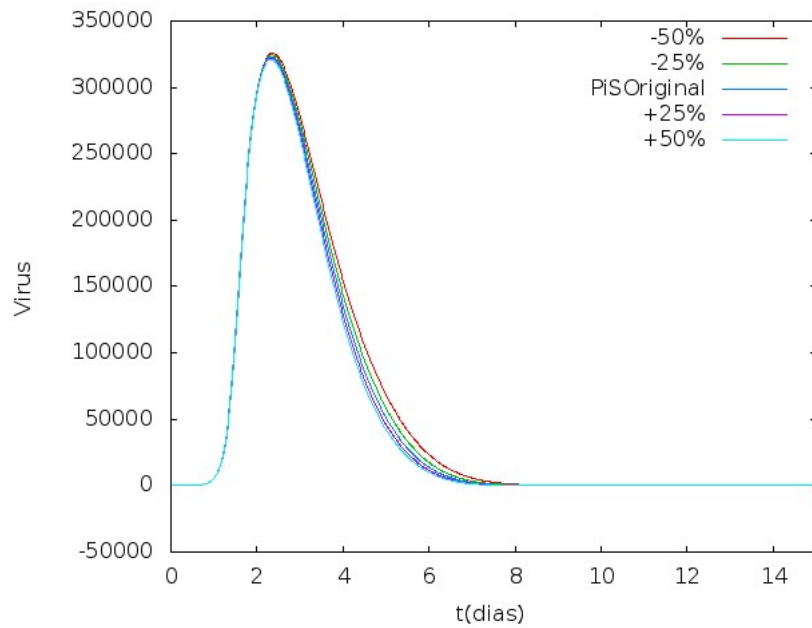


Figura 4.22: Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\pi_S$  (taxa de diferenciação das células B ativas em células do plasma de vida curta)

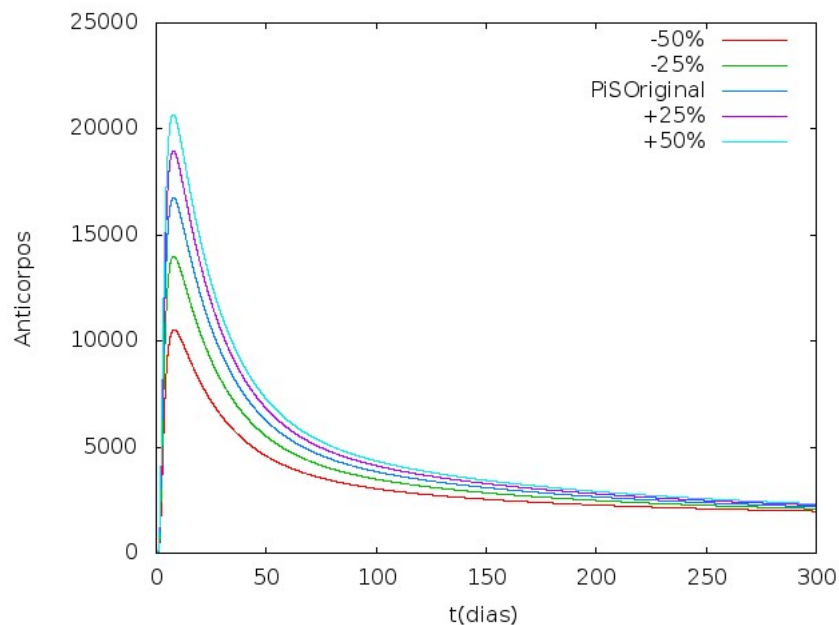


Figura 4.23: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\pi_S$  (taxa de diferenciação das células B ativas em células do plasma de vida curta)

Como o valor de  $\pi_S$  foi aumentado, o valor de  $\delta_S$ , que representa a taxa de morte das células do plasma de vida curta, também foi modificado de 0,1 para 0,5 a fim de

alcançar um melhor balanço entre a quantidade de células que se diferenciam em  $P_S$  e a quantidade de células  $P_S$  que morrem. As Figuras 4.24 e 4.25 apresentam as curvas de vírus e anticorpos, respectivamente, para os diferentes valores de  $\delta_S$ . Estas curvas apresentam comportamentos semelhantes aos descritos para as curvas de  $\pi_S$ , ou seja, esse parâmetro não afeta significativamente o comportamento do vírus mas afeta o nível atingido pelos anticorpos durante o pico da curva.

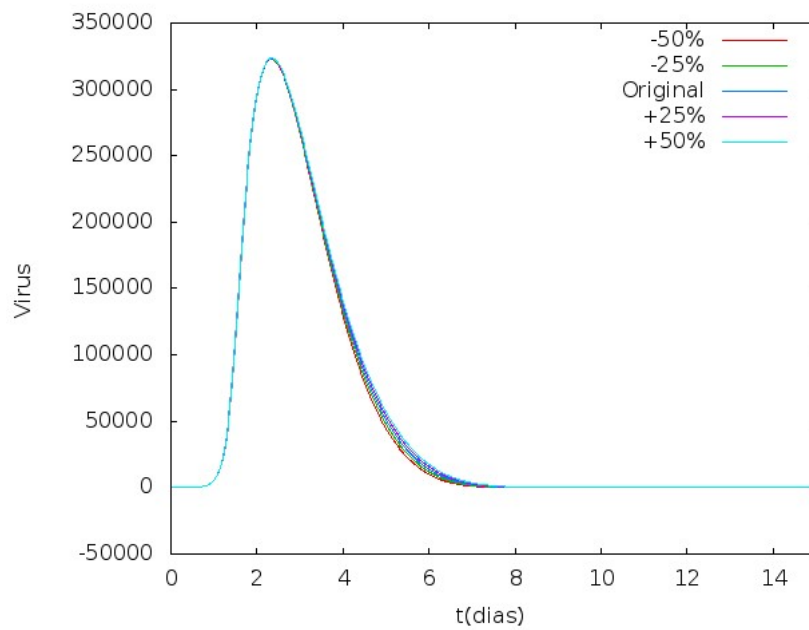


Figura 4.24: Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\delta_S$  (taxa de morte das células do plasma de vida curta)

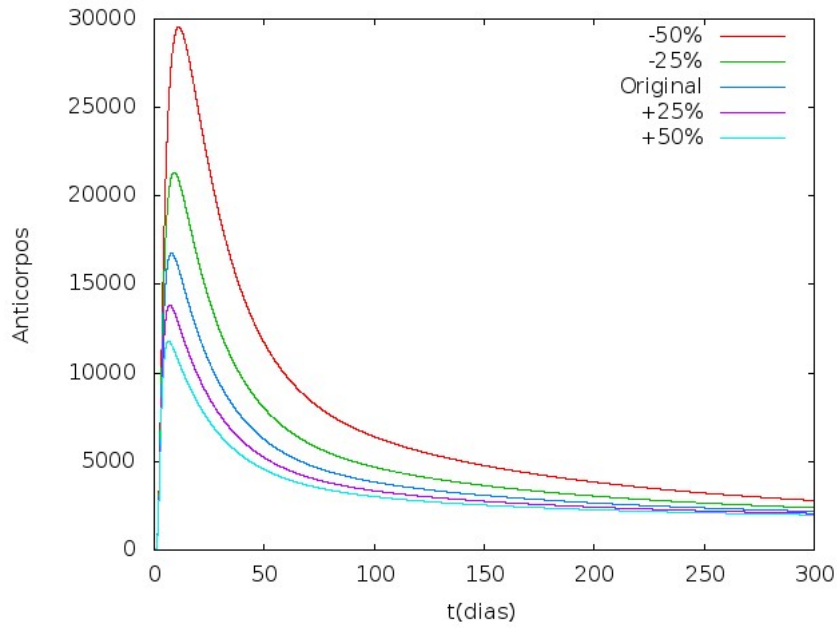


Figura 4.25: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\delta_S$  (taxa de morte das células do plasma de vida curta)

Os parâmetros  $\pi_{AS}$  e  $\pi_{AL}$  representam as taxas de produção de anticorpos pelas células do plasma de vida curta e vida longa, respectivamente. Uma análise dos seus valores originais (0,06 e 0,8, respectivamente) revelou uma incoerência: como o valor de  $\pi_{AS}$  pode ser menor do que o de  $\pi_{AL}$  se, segundo Sompayrac (2008),  $P_S$  secreta maiores quantidades de anticorpos do que  $P_L$ ? Assim, os valores de  $\pi_{AS}$  e  $\pi_{AL}$  foram modificados para 12,0 e 3,0, respectivamente. As Figuras 4.26 e 4.27 apresentam as curvas de vírus e anticorpos, respectivamente, para os diferentes valores de  $\pi_{AS}$  usados na análise de sensibilidade e as Figuras 4.28 e 4.29 apresentam essas curvas para os diferentes valores de  $\pi_{AL}$ . Como  $\pi_{AS}$  e  $\pi_{AL}$  estão diretamente relacionados à produção de anticorpos, apenas essas curvas foram afetadas de forma significativa pela variação destes parâmetros. É importante salientar uma diferença observada em relação ao impacto destes parâmetros: o parâmetro  $\pi_{AS}$  está relacionado às células do plasma de vida curta, que produzem maiores quantidades de anticorpos por curtos períodos de tempo, sendo assim, a variação do seu valor irá afetar a curva de maneira mais significativa nos seus momentos iniciais, sendo mais notável no valor atingido pelo pico. O parâmetro  $\pi_{AL}$ , por sua vez, está ligado às células do plasma de vida longa, que produzem menores quantidades de anticorpos por períodos mais longos.

Sendo assim, as alterações feitas em seu valor já não afetam tanto a curva no pico, e sim nos momentos posteriores a ele.

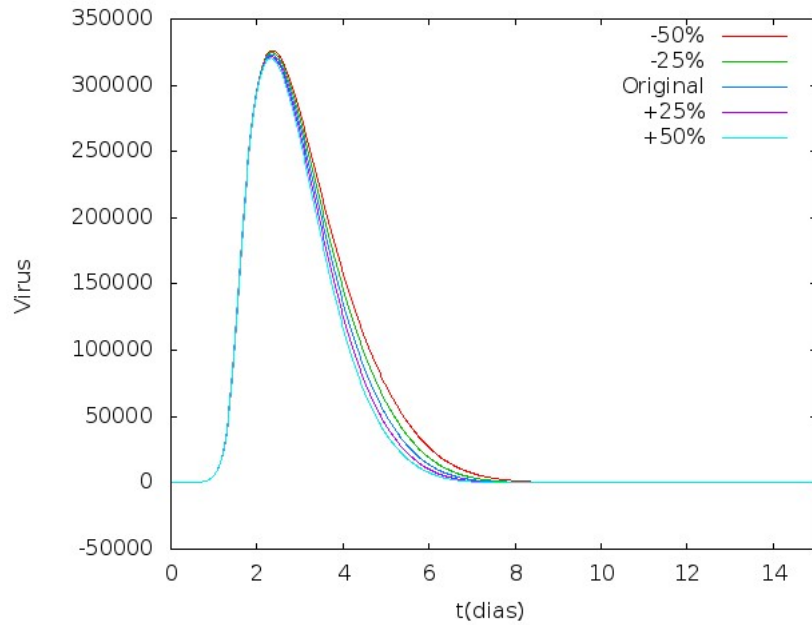


Figura 4.26: Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\pi_{AS}$  (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida curta)

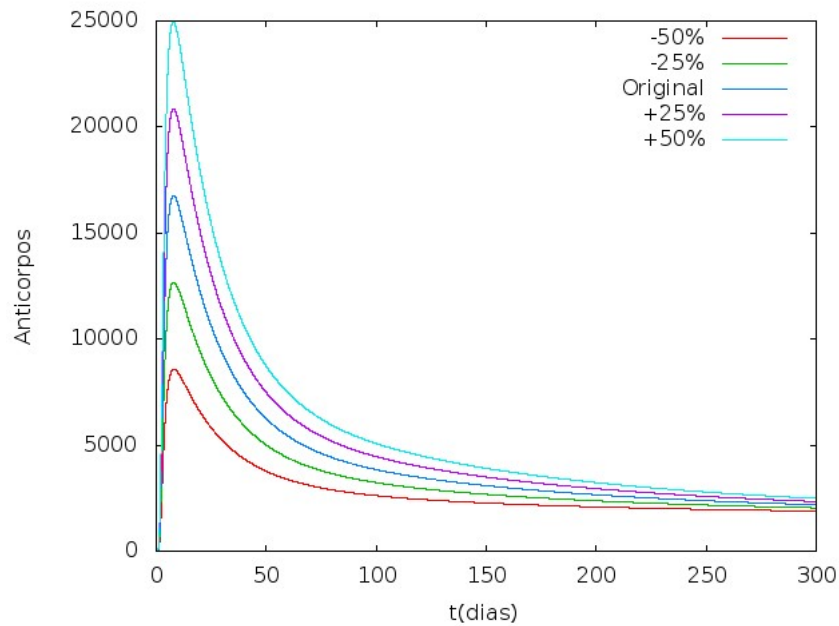


Figura 4.27: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\pi_{AS}$  (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida curta)

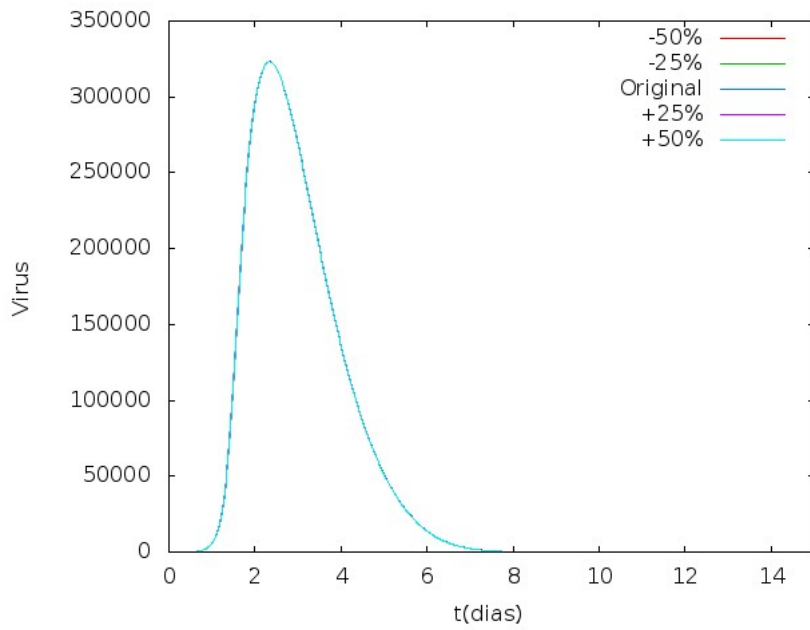


Figura 4.28: Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\pi_{AL}$  (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida longa)

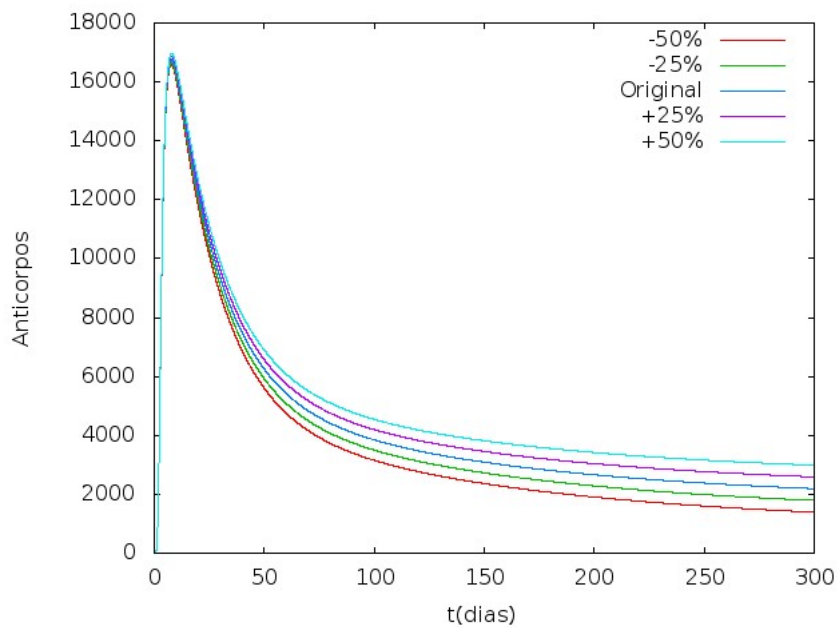


Figura 4.29: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\pi_{AL}$  (taxa de secreção de anticorpos por unidade de células do plasma de vida longa)

As Figuras 4.30 e 4.31 apresentam as curvas de vírus e anticorpos, respectivamente, para os diferentes valores de  $\delta_{LN}$  usados na análise de sensibilidade. O parâmetro  $\delta_{LN}$

representa a taxa de homeostase das células do local não infectadas, seu valor original era  $1,0 \times 10^{-3}$  e foi alterado para  $9,9 \times 10^{-2}$ . Quanto maior este valor, mais rápido será o restabelecimento do equilíbrio do organismo. As variações neste parâmetro afetaram, mas não muito, a curva de vírus e não afetaram em nada a curva de anticorpos.

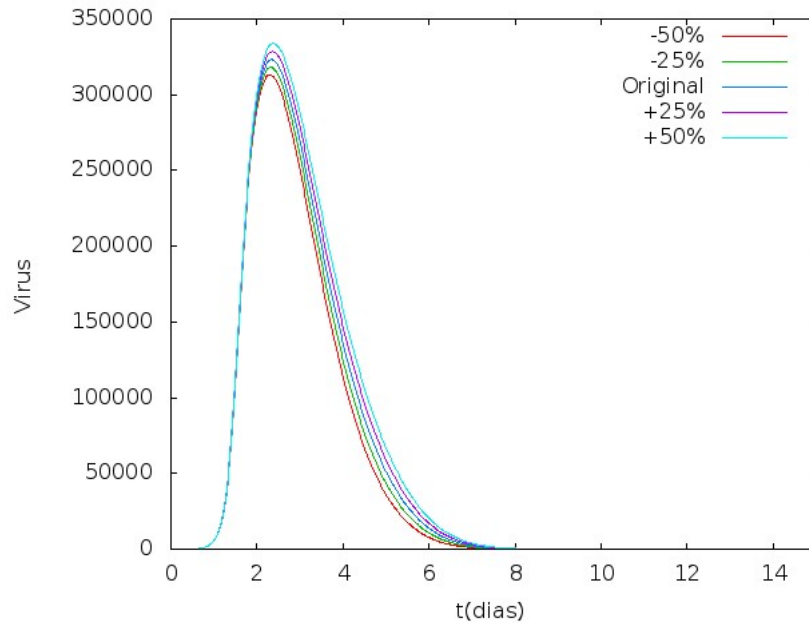


Figura 4.30: Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\delta_{LN}$  (taxa de homeostase das células do local não infectadas)



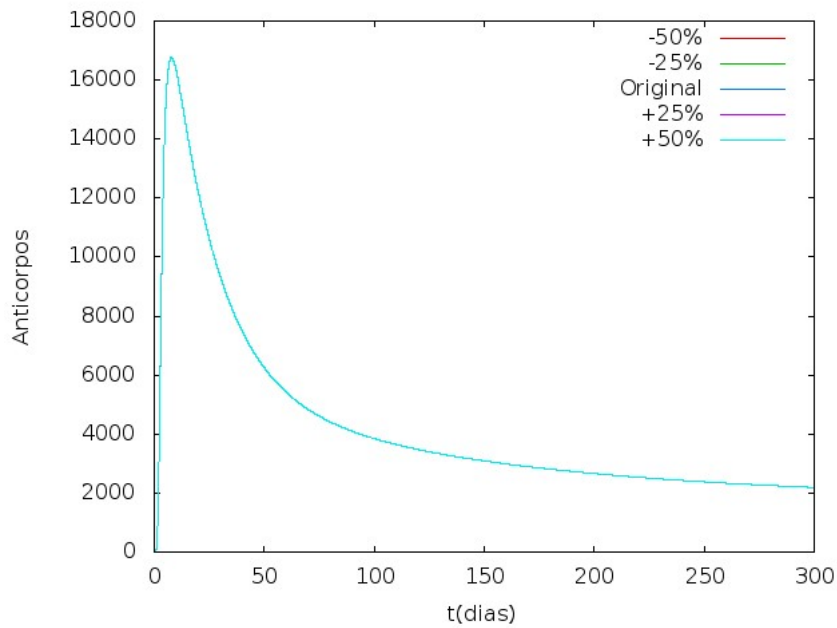


Figura 4.31: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de  $\delta_{LN}$  (taxa de homeostase das células do local não infectadas)

As Figuras 4.32 e 4.33 apresentam as curvas de vírus e anticorpos, respectivamente, para os diferentes valores de  $h$  usados na análise de sensibilidade. Este parâmetro é usado nas funções não lineares de ativação, proliferação e decaimento a fim de diferenciar a importância de cada uma das populações que interferem nestes processos. No modelo de Lee *et al.* (2009), os resultados principais são obtidos usando o valor 0 (zero) para este parâmetro enquanto que neste trabalho, foi usado o valor 0,01. Como pode ser observado, as variações deste parâmetro não afetaram de forma significativa as curvas analisadas.

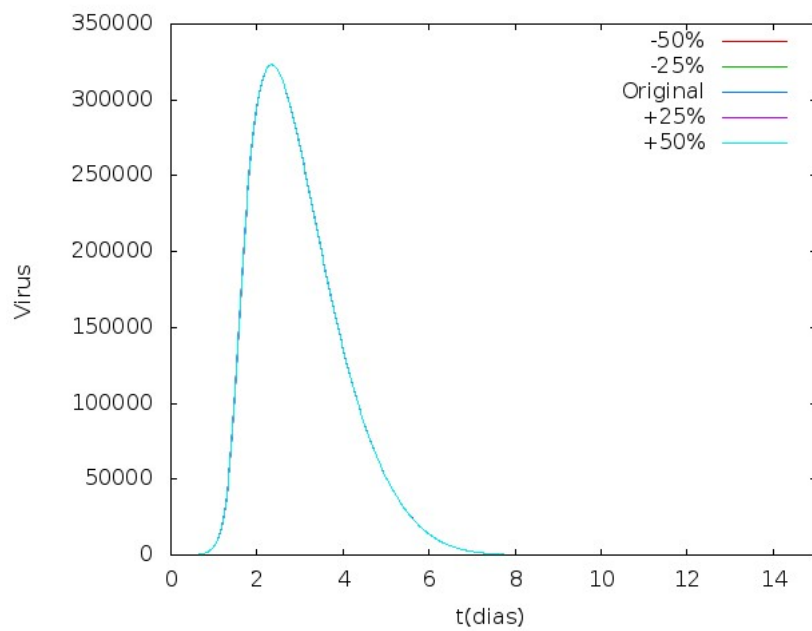


Figura 4.32: Curvas de vírus geradas pelo modelo para diferentes valores de  $h$

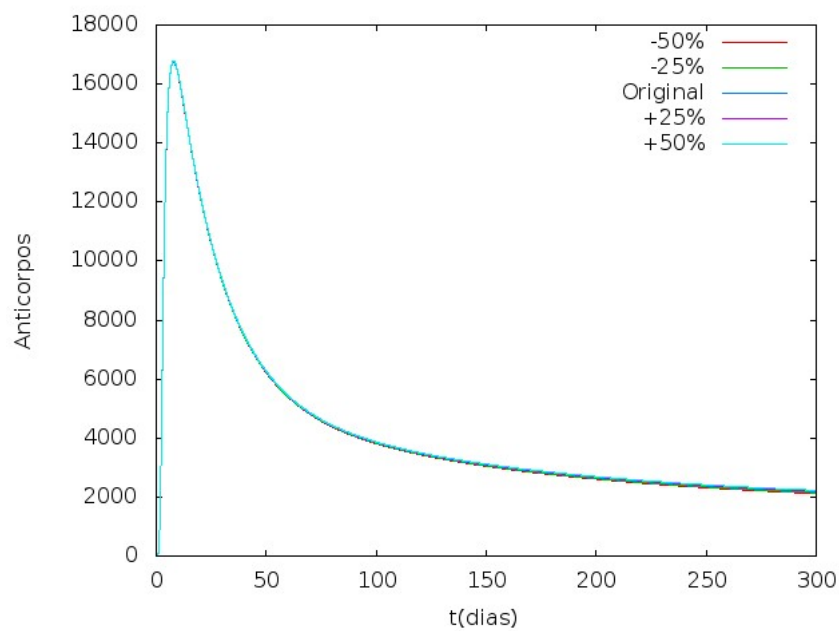


Figura 4.33: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores de  $h$

Em geral, os parâmetros modificados não provocaram variações significativas na curva de viremia. Dentre eles, os que se mostraram mais sensíveis foram  $\pi_S$ ,  $\pi_{AS}$  e  $\delta_{LN}$ . A curva de anticorpos quase não apresentou mudanças com a variação dos parâmetros  $\delta_{LN}$  e  $h$ . Já os parâmetros  $\pi_S$ ,  $\delta_S$  e  $\pi_{AS}$  afetaram o pico da curva. Isto pode ser explicado pelo fato de

estarem relacionados às células do plasma de vida curta, que produzem muitos anticorpos no início da resposta imune. Após os 50 dias, aproximadamente, as células do plasma de vida longa predominam na produção dos anticorpos, por este motivo, o parâmetro  $\pi_{AL}$  afetou a curva neste período. O parâmetro  $\delta_{BA}$  afeta a curva como um todo, afinal as células B ativam se diferenciam em células do plasma, tanto de vida curta quanto de vida longa.

## 5 CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou um modelo matemático-computacional para representar a resposta imune à vacina de FA. Foram considerados dois cenários: uma primeira vacinação e uma revacinação após dez anos. Foi possível acompanhar todo o processo da resposta imune: a infecção das células do local, a captura do antígeno feita pelas APCs, a ativação dos linfócitos T CD4+ e conseqüentemente dos linfócitos T CD8+ e B, a diferenciação destes últimos em células do plasma e células de memória e por fim o surgimento dos anticorpos. Os dados experimentais disponíveis para validação do modelo (Kay *et al.*, 2011; Collaborative group, 2014) indicam que o objetivo foi, ao menos parcialmente atingido, visto que foi possível validar quantitativamente a curva de anticorpos e qualitativamente as demais curvas, inclusive aquelas referentes à revacinação. Os resultados obtidos para este cenário estão de acordo com os obtidos nos estudos de Poland *et al.* (1981), Gotuzzo E. (2014) e Staples *et al.* (2010): indivíduos apresentavam níveis de anticorpos considerados protetores mesmo dez anos, ou mais, após a vacinação. Em uma segunda vacinação, a viremia detectável foi ainda menor que na primeira, o que é esperado já que o organismo possui anticorpos e células de memória, responsáveis por fornecer uma resposta mais rápida e eficiente contra um antígeno ao qual o indivíduo já foi exposto.

Ainda são necessários mais dados experimentais para validar ou ajustar o modelo, aumentando assim sua confiabilidade. Porém, segundo Martins and Homma (2013), os estudos sobre duração da imunidade “são de difícil interpretação, porque são utilizados diferentes métodos laboratoriais; diferentes métodos de avaliação da soroproteção... Não há um marcador sorológico de proteção bem estabelecido. Dados de imunidade celular são muito escassos”. Esses fatores dificultaram a obtenção de dados experimentais compatíveis com os padrões e unidades usadas no modelo. Levando em conta essa dificuldade, o modelo mostrou ser uma boa ferramenta para auxiliar na compreensão dos mecanismos importantes no processo de aquisição da imunidade devido à vacinação.

O modelo apresentou a habilidade de apoiar a simulação de uma revacinação, mostrando o funcionamento e a importância dos anticorpos e das populações de células de memória.

Pretende-se dar continuidade a este trabalho explorando a capacidade do modelo de simular ainda outros cenários e estratégias de vacinação de FA. Uma questão muito pertinente e que se pretende avaliar usando o modelo é o uso da vacina de FA em indivíduos imunossuprimidos, como os portadores do vírus HIV. Como a maioria dos países endêmicos encontra-se no continente africano, onde é alto o número de indivíduos HIV, é de suma importância investigar o melhor esquema vacinal para estes indivíduos visto que eles possuem, em geral, menos linfócitos T CD4+, importantes na ativação dos outros linfócitos e conseqüentemente na produção de anticorpos. Essa população é considerada de risco porque a vacina de FA é feita com vírus vivo, e caso o indivíduo não tenha uma resposta adequada, pode ter reações adversas e, em casos mais graves, ir a óbito.

Pretende-se avaliar também se uma menor dose da vacina de FA é capaz de induzir a mesma resposta imune. Esta é uma questão importante visto que uma dose menor demandaria menos recursos financeiros e possivelmente ofereceria menores riscos de eventos adversos.

## Referências Bibliográficas

- Ada, G., 1999. *The Immunology of Vaccination*, 3rd Edition. Vaccines. Plotkin, S. A. & Orestein, W. A., USA.
- Akai, T. J., 1994. *Applied numerical methods for engineers*. John Wiley & Sons.
- Barnett, E. D., 2007. Yellow fever: epidemiology and prevention. *Clinical Infectious Diseases* 44 (6), 850–856.
- Cannon, J. R., Galiffa, D. J., 2012. An epidemiology model suggested by yellow fever. *Mathematical Methods in the Applied Sciences* 35 (2), 196–206.
- Collaborative group, 2014. Duration of post-vaccination immunity against yellow fever in adults. *VACCINE* 32 (39), 4977–4984.
- Dobler, G., Jelinek, T., Frosner, G., NOTHDURFT, H.-D., Loscher, T., 1997. Kreuzreaktivitat von patientenseren mit akutem dengue-fieber mit fruhsummer-meningo-enzephalitis-tests. *Wiener medizinische Wochenschrift* 147 (19-20), 463–464.
- Fernandes, G. C., 2010. *Imunogenicidade e reatogenicidade das vacinas contra febre amarela: implicações para o programa nacional de imunizações*. Ph.D. thesis.
- Gotuzzo E., Yactayo S, C. E., May 2014. Efficacy and duration of immunity following yellow fever vaccine: a systematic review on the need of yellow fever booster every 10 years.
- Jentes, E. S., Poumerol, G., Gershman, M. D., Hill, D. R., Lemarchand, J., Lewis, R. F., Staples, J. E., Tomori, O., Wilder-Smith, A., Monath, T. P., 2011. The revised global

- yellow fever risk map and recommendations for vaccination, 2010: consensus of the informal who working group on geographic risk for yellow fever. *The Lancet infectious diseases* 11 (8), 622–632.
- Kay, A., Chen, L. H., Sisti, M., Monath, T. P., Oct 2011. Yellow fever vaccine seroconversion in travelers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 85 (4), 748–749.
- Le, D., Miller, J. D., Ganusov, V. V., 2015. Mathematical modeling provides kinetic details of the human immune response to vaccination. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 4 (177).
- Lee, H. Y., Topham, D. J., Park, S. Y., Hollenbaugh, J., Treanor, J., Mosmann, T. R., Jin, X., Ward, B. M., Miao, H., Holden-Wiltse, J., Perelson, A. S., Zand, M., Wu, H., Jul 2009. Simulation and prediction of the adaptive immune response to influenza A virus infection. *J. Virol.* 83 (14), 7151–7165.
- LeVeque, R. J., 2007. Finite difference methods for ordinary and partial differential equations - steady-state and time-dependent problems. SIAM.
- Martins, R. M., Homma, A., 2013. Há necessidade de doses de reforço para a vacina febre amarela? *Controvérsias em imunizações* 2013. 1ªed.
- Massad, E., Burattini, M. N., Coutinho, F. A. B., Lopez, L. F., 2003. Dengue and the risk of urban yellow fever reintroduction in sao paulo state, brazil. *Revista de Saúde Pública* 37 (4), 477–484.
- Monath, T. P., Gershman, M., Staples, J. E., Barrett, A. D. T., 2013. Yellow fever vaccine. *Vaccines*, 6th edition. Elsevier Saunders.
- Murphy, K. M., Travers, P., Walport, M., 2008. *Janeways immunobiology*.
- Niedrig, M., Lademann, M., Emmerich, P., Lafrenz, M., 1999. Assessment of igtg antibodies against yellow fever virus after vaccination with 17d by different assays: neutralization test, haemagglutination inhibition test, immunofluorescence assay and elisa. *Tropical Medicine & International Health* 4 (12), 867–871.

Odeint, September 2014. Odeint's homepage.

URL <http://docs.scipy.org>

OMS, 2013. Vaccines and vaccination against yellow fever: Who position paper–june 2013.

Weekly Epidemiological Record 88, 269–284.

Poland, J. D., Calisher, C. H., Monath, T. P., Downs, W. G., Murphy, K., 1981.

Persistence of neutralizing antibody 30-35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. Bull. World Health Organ. 59 (6), 895–900.

Saltelli, A., Ratto, M., Andres, T., Campolongo, F., Cariboni, J., Gatelli, D., Saisana, M., Tarantola, S., 2008. Global Sensitivity Analysis: the Primer. Wiley, New York.

M., Tarantola, S., 2008. Global Sensitivity Analysis: the Primer. Wiley, New York.

Sneyd, J., Keener, J., 1998. Mathematical Physiology. Springer New York.

Sompayrac, L., 2008. How the immune system works, 3rd Edition. Blackwell Publishing, USA.

Staples, J. E., Gershman, M., Fischer, M., Jul 2010. Yellow fever vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP).

MMWR Recomm Rep 59 (RR-7), 1–27.

Theiler, M., Smith, H. H., May 1937. THE USE OF YELLOW FEVER VIRUS MODIFIED BY IN VITRO CULTIVATION FOR HUMAN IMMUNIZATION. J. Exp.

Med. 65 (6), 787–800.

TP, M., 2001. Yellow fever: an update. Lancet Infect Dis.

Vasconcelos, P. F. d. C., 04 2003. Febre amarela. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 36, 275–293.

Wilson, J. N., Nokes, D. J., Medley, G. F., Shouval, D., 2007. Mathematical model of the antibody response to hepatitis b vaccines: Implications for reduced schedules. Vaccine

25 (18), 3705 – 3712.