
VACINA TETRAVALENTE CONTRA O VÍRUS DENGUE

Anna Maria de Oliveira Gomes¹; Tatiane Moraes de Souza Oliveira¹;
Zilvaine Alves de Oliveira¹; Aleksander Augusto da Silveira¹

*RESUMO: A dengue é uma arbovirose de maior prevalência em todo mundo tendo o homem como principal hospedeiro e como vetor o mosquito *Aedes aegypti*. O vírus da dengue pertence ao gênero *Flavivirus*, da família *Flaviviridae* e os quatro sorotipos da dengue são (*DENV1*, *DENV2*, *DENV3*, *DENV4*) e suas diferenças são o seqüenciamento de aminoácidos e proteínas de envelope. Por ter se tornado problema de saúde pública pelo alto índice de infecção fez-se necessário o desenvolvimento de uma vacina contra esse patógeno. Com base na vacina contra febre amarela o laboratório francês Sanofi Pasteur desenvolveu uma vacina tetravalente com a substituição dos genes virais que codificam as proteínas da pré-membrana (PRM) e do envelope (E), pelos genes de cada um dos quatro sorotipos da dengue, tendo como resultado uma única preparação de cepas recombinantes *CYD1*, *CYD2*, *CYD3* e *CYD4*. É distribuída somente na rede particular brasileira desde junho de 2016 e necessita de um esquema de 3 doses um a cada seis meses para atingir até 66% de eficácia. É necessário um acompanhamento a longo prazo para determinar questões de segurança contra efeitos adversos e duração da imunidade.*

PALAVRAS-CHAVE: Dengue. problema de saúde pública. vacinas.

INTRODUÇÃO

Nos últimos 50 anos o número de incidência da dengue aumentou cerca de trinta vezes mais devido a urbanização e alterações climáticas que favorecem a propagação do vetor, causando milhares de infecções em diversos países. O local de maior incidência de dengue estimado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é na África com cerca de 200 mil casos com 30 mil mortes anualmente. No Brasil de janeiro de 2015 à janeiro de 2016 foram registrados 116.966

casos prováveis de dengue. A região Sudeste apresenta o maior número de casos, totalizando 68.224, logo depois vem a região Centro-Oeste com 17.234 casos, Noroeste com 15.444, Sul 9.972 e Norte com 6.092 (BRADY et al., 2012; LINDENBACH et al., 2013; ISHIKAWA et al., 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Graduandos do Curso de Farmácia da Faculdade Estácio de Sá de Goiás – FESGO. Email de correspondência: alexsander.silveira@estacio.br

A região Centro-Oeste teve um número

considerável de casos graves de dengue e sinais de alarme, com 5 casos graves e 162 sinais de alarme somente até a 4^o semana de 2016, sendo distribuídos da seguinte forma: Goiás 2 casos graves e 131 sinais de alarme, Distrito Federal 1 caso grave e 25 sinais de alarme, Mato Grosso 1 caso grave e 5 sinais de alarme e Mato Grosso do Sul com 1 caso grave e 1 sinal de alarme (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). O vírus da dengue se agrupa nos vírus oriundos da natureza, denominados de arbovírus no qual se inclui os vírus da febre amarela e Zika. Pertence ao Gênero Flavivírus, da Família Flaviviridae e é um dos mais rápidos propagadores de patógenos em seres humanos, causando vários danos a saúde pública. Os quatro sorotipos da dengue são o DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4 e suas principais diferenças residem nas sequências de aminoácidos de suas proteínas de envelope. O vírus da dengue é um vírus de RNA (ácido ribonucléico) de fita positiva e codifica as proteínas estruturais como o dímero de proteína E (E), a proteína pré M (prM), a proteína M (M) e o capsídeo viral (C) e as proteínas não estruturais NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 (GUY et al., 2011; LINDENBACH et al., 2013; ISHIKAWA et al., 2013). O hospedeiro principal dos 4 sorotipos do vírus da dengue é o homem, tendo como principal vetor o mosquito *Aedes aegypti*, também podendo ser transmitido pela espécie *Aedes albopictus*. Na transmissão a fêmea do mosquito vetor pica o homem infectado durante a fase que o vírus circula na corrente sanguínea, que pode durar de 4 a 12 dias. No período de incubação a infecção dura de 3 a 6 dias, o paciente apresenta sintomas como dores de cabeça, associadas a febre e mialgias (CHAWLA et al., 2013). A recuperação do quadro infeccioso viral pode levar de três a cinco dias podendo por ser uma doença intermitente haver remissão em pacientes com problemas hepáticos e insuficiência renal. Em aproximadamente 15% dos casos pode ocorrer posteriormente sérias complicações como febre hemorrágica, falência múltipla de órgãos, icterícia e trombocitopenia (WORLD HEALTH, 1992; ISHIKAWA et al., 2013). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) os sinais

de alerta da dengue são sensibilidade abdominal ou dor, vômito constante, edema, sangramento na mucosa, inquietação e letargia e também hepatomegalia. Há aumento do hematócrito seguido de rápida diminuição de plaquetas, com um aumento da permeabilidade capilar onde pode ocorrer extravasamento de plasma levando ao choque e até mesmo à morte (BHATT et al., 2013). A infecção pelo vírus da dengue é um problema de Saúde Pública e a situação é alarmante no Brasil e no mundo exigindo um rápido desenho e produção de uma vacina eficiente contra este patógeno. O foco e o direcionamento vacinal alvo fica em torno da proteína E, proteína responsável pela interação entre o vírus e a célula hospedeira, consequentemente é uma proteína de envelope susceptível a pressões imunológicas e seletivas. Desta forma, a proteína E é o principal alvo molecular para estratégias vacinais, apresentando diferentes tecnologias de engenharia genética para diferentes produções de vacinas (LINDENBACH, 2013).

VARIABILIDADE GENÉTICA DO VÍRUS DA DENGUE

A adaptação do vírus da dengue no organismo humano depende de sua variabilidade genética, sendo demonstrada pela caracterização filogenética em cada sorotipo da dengue. Em estudos realizados na década de 80 foram comparados as sequências parciais da estrutura do genoma viral dos quatro sorotipos da dengue de diferentes regiões geográficas e demonstrada a associação de específicos genótipos intra-típicos em casos da doença de maior ou menor gravidade. Mutações no genoma do DENV-3 foram demonstradas, porém a associação dessas alterações com a gravidade da doença não foi totalmente comprovada (ROMANO, 2013; FÉRES, 2008).

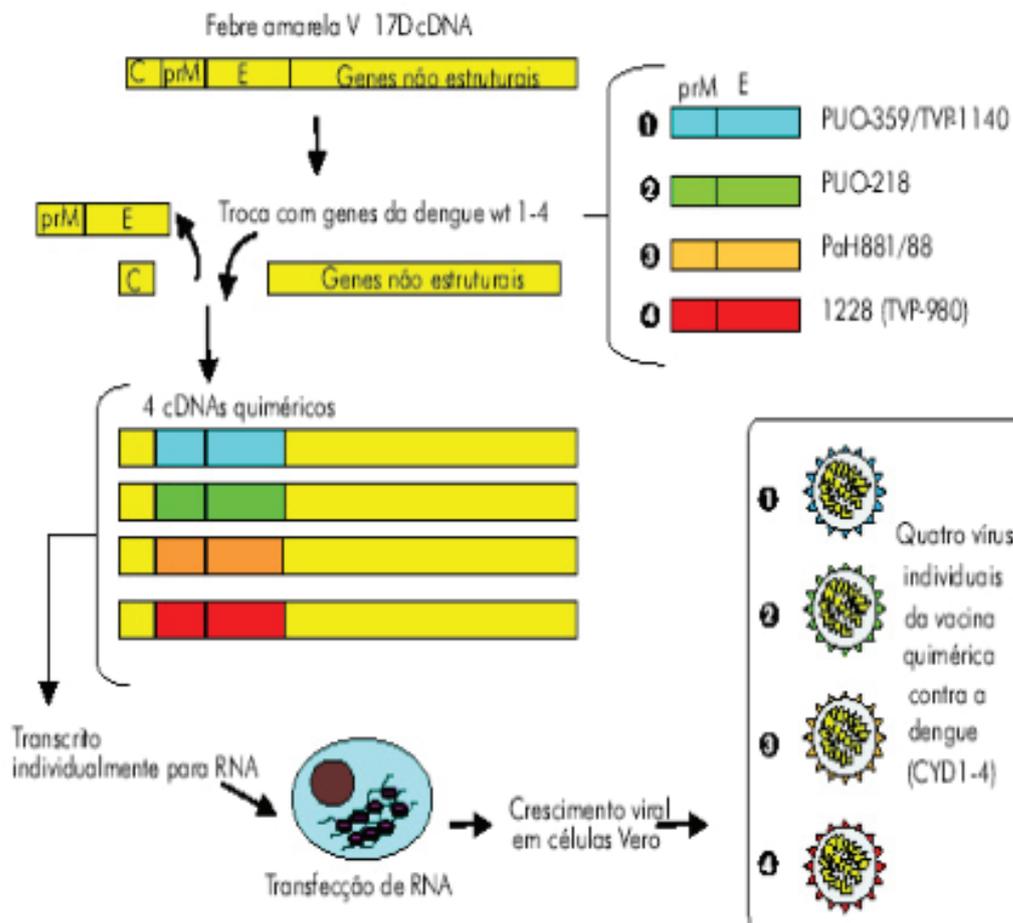
Em estudos realizados em 2013 por pesquisadores da USP em São Paulo foi apontado que a variabilidade viral intra-hospedeiro do vírus da dengue é muito menor do que se acreditava anteriormente. Análises com o vírus da dengue tipo 2 demonstraram uma baixa variabilidade genética intra-hospedeiro infectado. Como o sistema de defesa do organismo humano não consegue oferecer uma resposta ágil diante do progresso da doença, o

vírus sofre menos pressões para se modificar. Os métodos de estudo utilizados anteriormente além de bem mais trabalhosos eram mais caros, o que ocasionava a análise de apenas uma determinada região do genoma e nem todas as partículas virais eram elucidadas. Nessa pesquisa usando técnicas de ultrasequenciamento, foi possível gerar praticamente uma sequência completa dos genes que codificam as suas proteínas virais para cada partícula de vírus existente na amostra, proporcionando uma análise mais aprofundada (ROMANO, 2013).

VACINA RECOMBINANTE TETRAVALENTE CONTRA O VÍRUS DA DENGUE

O laboratório francês Sanofi Pasteur desenvolveu uma vacina tetravalente contra a doença que apresenta vírus recombinantes e atenuados. O protótipo vacinal foi desenhado com base

na vacina contra a febre amarela, que tem-se mostrado imunogênica e segura em humanos. A vacina estimula e suscita a produção de imunoglobulinas que previnem a reinfecção da dengue, estimulando as células memória linfócitos T CD4 e linfócitos B. Na construção da vacina contra o vírus da dengue houve a substituição dos genes virais que codificam as proteínas da pré-membrana (PRM) e do envelope (E) também utilizados na vacina da febre amarela, pelos genes de cada um dos quatro sorotipos da dengue resultando em uma vacina com cepas recombinantes CYD1, CYD2, CYD3 e CYD4 em única preparação, conforme apresentado na figura 1 (GUY, 2011; BRADY et al., 2012; GUIRAKHOO, 2000).



Construção da vacina quimérica contendo 4 antígenos de vírus distintos. Figura adaptada de GUY, 2011.

ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS

Nos estudos pré-clínicos *in vitro* realizados em células primárias ou adaptadas foi investigada a infectividade das quatro cepas CYD em células dendríticas humanas derivadas de monócitos. As consequências dessas infecções foram observadas por meio da avaliação da ativação e maturação celular e padrão de secreção de citocinas pró e anti-inflamatórias, quimiocinas e interferon tipo I (IFNI). Observou-se que os vírus CYD1-4 induziram a maturação das células dendríticas e uma resposta imune controlada, acompanhado pela produção limitada de citocinas inflamatórias e expressão uniforme do IFNI (GUIRAKHOO et al.; 2000; GUY, 2011). Nos estudos pré-clínicos *in vivo* realizados em camundongos e algumas espécies de macacos para testar a neurovirulência e comparar o neurotropismo das cepas da vacina CYD1-4 com o resultado após infecção pelas cepas parentais (dengue ou YF 17D), observouse que após inoculação intracerebral todos os quatro vírus CYD mostraram-se significativamente atenuados, mesmo quando comparados com a cepa da vacina YF 17D. Todos os testes realizados demonstraram que a vacina é genética e fenotipicamente estável, não hepatotrópica, menos virulenta em comparação com a vacina contra a febre amarela. Estudos complementares também foram realizados para avaliar se o mosquito que transmite os vírus DENV e da febre amarela poderia ser infectado com os vírus da vacina (CYD) após picar um hospedeiro vacinado, ficando comprovado que o vírus atenuado CYD é incapaz de se replicar no mosquito vetor *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* por via oral e de se replicar no tecido do intestino médio desse mosquito após inoculação intratorácica (GUY, 2011). O desenvolvimento de vacinas multivalentes tem grande potencial de interferência entre os sorotipos, o que pode acarretar em imunizações incompletas para os quatro sorotipos da dengue. As imunizações devem ser espaçadas por vários meses para evitar interferência negativa, possivelmente resultante da produção de anticorpos de curta duração que apresentam reatividade cruzada (IgM),

ativação de células T com reatividade cruzada ou mesmo imunidade inata e para permitir melhor indução de memória. Administrando um esquema de três doses, uma a cada seis meses, a vacina é capaz de estimular o sistema imunológico a produzir anticorpos contra os quatro sorotipos da dengue podendo atingir até 66% de eficácia. Índice relativamente baixo em comparação as vacinas contra sarampo e febre amarela que oferecem proteção de 98% e 90% respectivamente. Entretanto o acompanhamento a longo prazo abordará questões de duração da imunidade e segurança contra eventos adversos (GUY et al., 2011). Distribuída na rede particular brasileira desde julho de 2016 sem previsão de disponibilização para a rede pública, a DENGVAIXA possui obstáculos para liberação em larga escala. Um deles é a falta de conhecimento sobre a duração da imunização e o custo de produção. Podem ser imunizadas pessoas de 9 a 45 anos de idade. Espera-se que o número de casos de dengue diminua e que casos mais leves da doença sejam observados nos próximos anos (MONTENEGRO, 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de desenvolvimento de uma imunização segura e eficaz contra o vírus da dengue, demonstra a necessidade de uma vacina definitiva para a população. Uma vez que o crescimento populacional e as variações climáticas dos últimos tempos têm favorecido a propagação dos mosquitos vetores *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* e a transmissão deste patógeno. Os números de casos são alarmantes e o assunto tem-se tornado em muitos países prioridade de Saúde Pública. A vacina tetravalente recombinante de vírus atenuados contra a dengue tem demonstrado ser menos virulenta em comparação com a vacina contra a febre amarela 17D (YFV 17D) e ter segurança e imunogenicidade satisfatória. O esquema de três doses da vacina desenvolvida pela Sanofi Pasteur induz respostas imunes humorais e celulares contra os quatro sorotipos na grande maioria dos vacinados e a presença de anticorpos contra Flavivírus favorece resposta mais rápida

e maiores títulos de anticorpos neutralizantes. Mas para a vacina contra a dengue somente um acompanhamento à longo prazo abordará questões de duração da imunidade e segurança contra eventos adversos muito raros. Para todo o mundo a obtenção de uma vacina eficaz e segura contra a dengue é uma necessidade imediata. No Brasil a incidência da doença tem aumentado de forma dramática nos últimos anos, e o que se espera é que logo todos estejam protegidos do contágio com a doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHATT,S.; GETHING,P.W.; BRADY,O.J. JANE P. MESSINA,J.P.; FARLOW,A.W.; MOYES, C.L.; DRAKE, J.M.; BROWNSTEIN, J.S.; HOEN,A.G.; SANKOH,O.; MYERS,M.F.; GEORGE,D.B.; JAENISCH,T.; WINT,G.R.W.; SIMMONS,C.P.; SCOTT,T.W.; JEREMY J. FARRAR, J.J.; HAY,S.I. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 496 (7446): 504–507. 25 abril 2013.
- BRADY,O.J.; GETHING,P.W.; BHATT,S.; MESSINA,J.P.; BROWNSTEIN,J.S.; HOEN,A.G.; MOYES,C.L.; FARLOW,A.W.; SCOTT,T.W.; HAY,S.I. Refin-ing the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLOS*. (1760): 68. 07 agosto 2012
- CHAMBERS,T.; NESTOROWICZ,A.; MASON,P.; RICE,C. Yellow fever/Japanese encephalitis chimeric viruses: Construction and biological properties. *J Virol*. 1999 Apr;73(4):3095–101.
- CHAWLA,P.; YADAV,A.; CHAWLA,V. Clinical implications and treatment of dengue. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, Índia, 10 set 2013.
- FÉRES,V.C.R. Epidemiologia molecular dos vírus dengue em Goiânia-GO, 1994 - 2006: vigilância laboratorial e caracterização dos sorotipos circulares 2008. 149 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.
- GUIRAKHOO,F.; WELTZIN,R.; CHAMBERS,T.J.; ZHANG,Z.X.; SOIKE,K.; RATTERREE,M.; ARROYO,J.; GEORGAKOPOULOS,K.; CATALAN,J.; MONATH.T.P. Recombinant chimeric yellow fever-dengue type 2 virus is immunogenic and Protective in Nonhuman primates. *J Virol*. 2000 Jun;74(12):5477–85. Doi:10.1128/JVI.74.12.54775485.2000 .
- GUIRAKHOO,F.; PUGACHEV,K.; ZHANG,Z.; MYERS,G.; LEVENBOOK,I.; DRAPER,K.; et al. Safety and efficacy of chimeric yellow fever-dengue virus tetravalent vaccine formulations in nonhuman primates. *J Virol*. 2004 May;78(9):4761–75. Doi:10.1128/JVI.78.9.4761-4775.2004.
- GUY,B.; SAVILLE,M.; LANG,J.; SIQUEIRA,J.B.; BRICKS,L.F. Desenvolvimento de uma vacina tetravalente contra dengue. *Revista Pan-Amazônica de Saúde, Ananindeua jun*. 2011
- ISHIKAWA, T.; YAMANAKA, A.; KONISHI, E.A. Review of successful flavivirus vaccines and the problems with those flaviviruses for which vaccines are not yet available. *Vaccine, Japão, Elsevier*, 3 nov 2013.
- LINDENBACH,B.; MURRAY,C.; THIEL,H.; RICE,C. Flaviviridae. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. sixth ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. p. 712–46.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância em Saúde, Volume 47, Nº 7 – 2016, ISSN 2358-9450 (<http://combateaedes.saude.gov.br/images/pdf/2016-003-Dengue-SE2.pdf>) Acesso em: 02 maio 2016.
- MONTENEGRO,R. Vacina da dengue chega ao Brasil. *Revista Istoé Edição nº 2447*. 29 jul. 2016. Disponível em <http://istoe.com.br/vacina-da-dengue-chega-ao-brasil/>. Acesso em: 03 nov. 2016.
- ROMANO, C.M.; LAUCK, M.; SALVADOR, F.S.; LIMA, C. R.; VILAS-BOAS, L.S; ARAUJO, E.S.A.; LEVI, J.E.; PANUTTI, C.S.; CONNOR, D.; KALLAS, E.G.; Inter- and Intra-Host Viral Diversity in a Large Seasonal DENV2 Outbreak. *revista PloS One*, ago. 2013.
- WORLD HEALTH Organization. WHO Division of Epidemiological Surveillance and Health Situation Trend Assessment Global Health Situation and Projections Estimates. Geneva, Switzerland; 1992.