

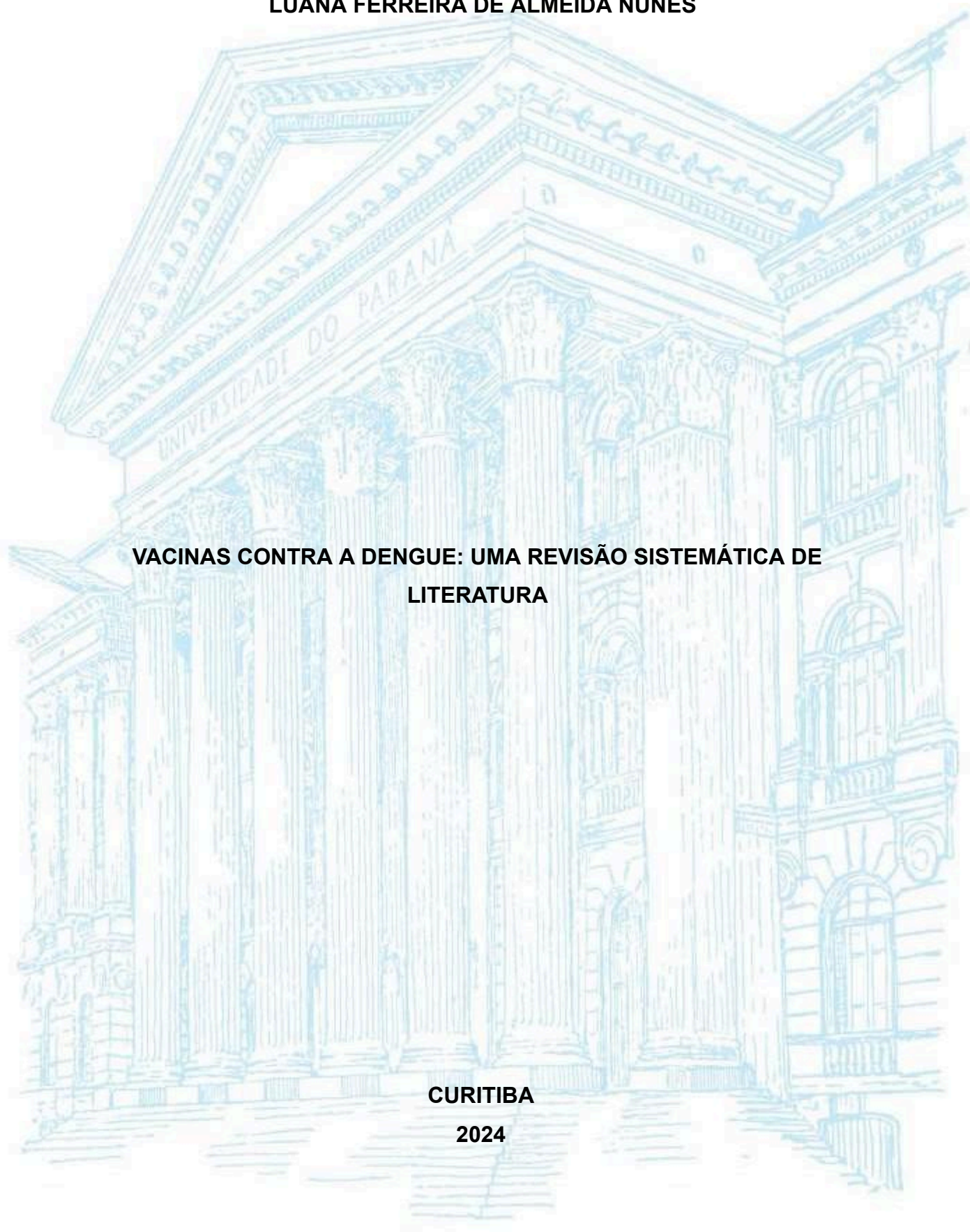
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUANA FERREIRA DE ALMEIDA NUNES

**VACINAS CONTRA A DENGUE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE
LITERATURA**

CURITIBA

2024



LUANA FERREIRA DE ALMEIDA NUNES

**VACINAS CONTRA A DENGUE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE
LITERATURA**

Monografia apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel, Curso de Ciências
Biológicas, Setor de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Dra. Adriana Frohlich
Mercadante

CURITIBA

2024

Dedico este trabalho à minha família, pelo
apoio em todas as etapas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus, que me fortaleceu para superar as dificuldades deste percurso.

À minha família, sou grata por serem meu suporte e por acreditarem em mim a cada fase dessa jornada.

Ao meu namorado, agradeço por sua paciência e apoio incondicional. Sua confiança em mim e suas palavras de incentivo foram indispensáveis para que eu me mantivesse determinada.

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Adriana Frohlich Mercadante, sou grata por suas instruções, paciência e ensinamentos que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos, agradeço por tornarem essa trajetória mais alegre. Cada conversa, risada e gesto de apoio tornaram essa experiência mais especial.

À Universidade Federal do Paraná, agradeço pela formação e pelas oportunidades que me proporcionou. Tenho orgulho de fazer parte dessa instituição, que foi fundamental para meu crescimento acadêmico e pessoal.

A todos vocês, minha gratidão mais sincera por estarem ao meu lado e contribuírem para a realização desta conquista.

“A persistência é o menor caminho do êxito”

Charles Chaplin

RESUMO

A dengue é uma arbovirose causada especialmente por quatro sorotipos do vírus (DENV-1 a DENV-4), pertencente à família *Flaviviridae* e transmitida principalmente pela picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. A dengue é um problema de saúde pública em regiões tropicais e subtropicais, como o Caribe, América do Sul e Sudeste Asiático. Após a Segunda Guerra Mundial, fatores como urbanização, mudanças climáticas, superpopulação e viagens aéreas impulsionaram sua disseminação. A infecção primária pelo DENV induz memória imunológica duradoura por células T e B, permitindo uma resposta eficaz em reinfecções pelo mesmo sorotipo. Contudo, infecções por sorotipos diferentes podem causar a amplificação dependente de anticorpos (ADE), elevando a viremia e o risco de formas graves da doença. A complexidade do vírus e sua interação com o sistema imune dificultam o desenvolvimento de vacinas eficazes, apesar de esforços contínuos em controle vetorial e conscientização pública. A presente revisão sistemática abordou vacinas vivas atenuadas, com ênfase na CYD-TDV (Dengvaxia) e TAK-003 (Qdenga) que já foram licenciadas, vacinas inativadas, vacinação heteróloga, vacinas de subunidade, de DNA, de vetor viral e uma vacina de peptídeo sintético. As respostas imunológicas ao vírus e as complicações imunopatológicas também são discutidas neste trabalho. A metodologia foi baseada na seleção de revisões e estudos clínicos dos últimos cinco anos seguindo os critérios PRISMA, para análise de eficácia e segurança das vacinas. Conclui-se que, embora os avanços no desenvolvimento de vacinas sejam promissores, desafios ainda persistem, como a necessidade de imunidade ampla e de longo prazo contra múltiplos sorotipos e a prevenção da ADE.

Palavras-chave: vírus da dengue; vacinas; amplificação dependente de anticorpos; resposta imunológica.

ABSTRACT

Dengue is an arboviral disease primarily caused by four serotypes of the virus (DENV-1 to DENV-4), belonging to the *Flaviviridae* family, and is mainly transmitted through the bite of female mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Dengue is a public health problem in tropical and subtropical regions, such as the Caribbean, South America, and Southeast Asia. After World War II, factors such as urbanization, climate change, overpopulation, and air travel have driven its spread. Primary infection with DENV induces long-lasting immune memory by T and B cells, allowing an effective response in reinfections by the same serotype. However, infections by different serotypes can cause antibody-dependent enhancement (ADE), increasing viremia and the risk of severe forms of the disease. The complexity of the virus and its interaction with the immune system make it difficult to develop effective vaccines, despite ongoing efforts in vector control and public awareness. This systematic review addressed live attenuated vaccines, with an emphasis on CYD-TDV (Dengvaxia) and TAK-003 (Qdenga), which have already been licensed, inactivated vaccines, heterologous vaccination, subunit vaccines, DNA vaccines, viral vector vaccines, and a synthetic peptide vaccine. Immune responses to the virus and immunopathological complications are also discussed in this work. The methodology was based on the selection of reviews and clinical studies from the last five years following PRISMA criteria, to analyze vaccine efficacy and safety. It is concluded that, although advances in vaccine development are promising, challenges still persist, such as the need for broad and long-term immunity against multiple serotypes and prevention of ADE.

Keywords: dengue virus; vaccines; antibody-dependent enhancement; immune response.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - ESTRUTURA DO VÍRUS DA DENGUE.....	12
FIGURA 2 - FLUXOGRAMA PRISMA DE SELEÇÃO DOS ARTIGOS.....	16
FIGURA 3 - MAPA-MÚNDI COM ÁREAS DE RISCO PARA A DENGUE.....	21
FIGURA 4 - CICLO DE REPLICAÇÃO DO DENV	23
FIGURA 5 - AMPLIFICAÇÃO DEPENDENTE DE ANTICORPOS.....	31

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - ARTIGOS SELECIONADOS PARA A REVISÃO DE LITERATURA.....	17
QUADRO 2 - COMPARATIVO ENTRE VACINAS DISPONÍVEIS E EM DESENVOLVIMENTO.....	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	OBJETIVOS.....	14
1.1.1	Objetivo geral.....	14
1.1.2	Objetivos específicos.....	14
2	METODOLOGIA.....	15
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	16
3.1	ASPECTOS GERAIS DA DENGUE.....	17
3.2	A RESPOSTA IMUNE DO HOSPEDEIRO.....	21
3.2.1	A resposta imune inata.....	21
3.2.2	Evasão do sistema imune.....	24
3.2.3	A resposta imune adaptativa humoral.....	25
3.2.3.1	Amplificação dependente de anticorpos.....	27
3.2.4	A resposta imune adaptativa celular.....	29
3.3	REVISÃO DAS VACINAS DISPONÍVEIS E EM DESENVOLVIMENTO.....	31
3.3.1	Vacina viva atenuada.....	36
3.3.1.1	CYD-TDV (Dengvaxia).....	36
3.3.1.2	TAK-003 (DENVax, Qdenga).....	39
3.3.1.3	TV003.....	43
3.3.1.4	TDEN.....	47
3.3.2	Vacina inativada.....	47
3.3.3	Vacinação heteróloga.....	50
3.3.4	Vacina de subunidade.....	51
3.3.5	Vacina de DNA e mRNA.....	53
3.3.6	Vacina de Vetor Viral.....	55
3.3.7	Vacina de peptídeo sintético (PepGNP-Dengue).....	56
4	DISCUSSÃO.....	58
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
	REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose¹ causada por quatro sorotipos mais conhecidos do vírus da dengue, DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (RICO-HESSE, 1990), transmitidos principalmente pela picada do mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse). Outra forma de transmissão do vírus é através da gestação, de mãe para o filho, e também por transfusão de sangue. No ano de 2013 foi identificado o quinto sorotipo do vírus da dengue, o DENV-5, após sua descoberta em um fazendeiro na Malásia em 2007. A princípio, acreditava-se que fosse uma variante do DENV-4, comum em áreas silvestres do Sudeste Asiático, mas análises genéticas demonstraram que o DENV-5 é distinto filogeneticamente e possui maior semelhança com o DENV-2 (MUSTAFA et al., 2014). O DENV pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Flavivirus*. Essa enfermidade representa um problema significativo de saúde pública em várias regiões tropicais e subtropicais do mundo, principalmente o Caribe, Ásia Central e Sudeste e a América do Sul. Após a Segunda Guerra Mundial, a dengue se tornou um grande desafio para a saúde pública, impulsionada pela urbanização e alterações climáticas. Outros fatores que contribuíram para os surtos de dengue incluem superpopulação, falta de água potável, viagens aéreas e uma maior conscientização sobre os seus efeitos na saúde (KHAN et al., 2023).

Nas últimas duas décadas, a incidência global da dengue aumentou de forma significativa, configurando-se como um grande desafio para a saúde pública. A Organização Mundial da Saúde (OMS) observou um aumento de dez vezes no número de casos notificados globalmente, passando de 500.000 no ano de 2000 para 5,2 milhões em 2019 (OMS, 2023).

A classificação anterior da OMS dividia a doença em três categorias: febre indiferenciada, febre da dengue e febre hemorrágica da dengue (FHD). A FHD foi subdividida em quatro graus de gravidade, sendo que os graus III e IV correspondem à síndrome do choque da dengue (HARAPAN et al., 2020). Atualmente, a OMS orienta o uso do termo dengue grave para se referir aos casos

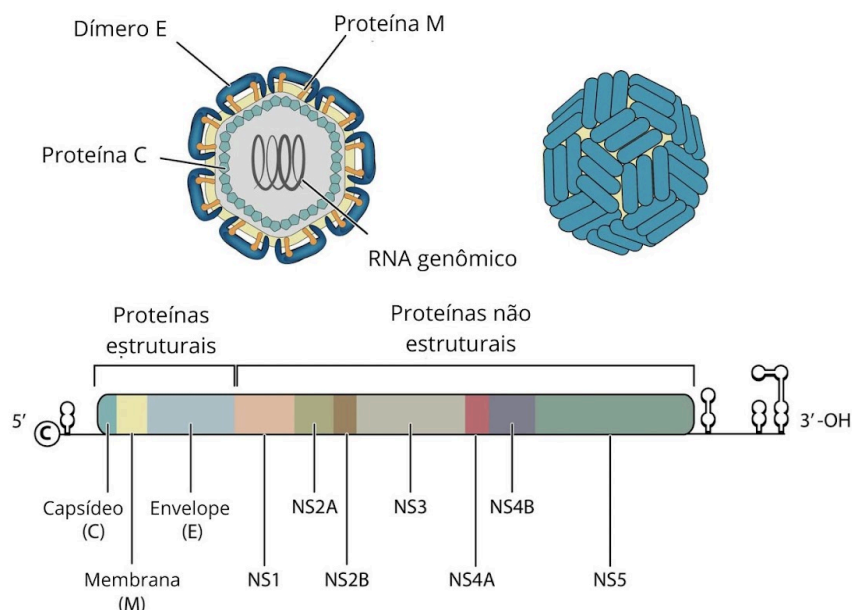
¹ Arboviroses são doenças virais transmitidas por artrópodes, principalmente mosquitos e carrapatos, que incluem os gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles* (BRASIL, 2024).

mais críticos da doença, considerando que nem todos os quadros graves apresentam hemorragias (BRASIL, 2024).

As manifestações clínicas incluem: um quadro mais brando da doença que ocorre geralmente em infecções primárias; dengue grave, um quadro agressivo e potencialmente fatal da doença apresentando sintomas como coagulopatia, aumento da fragilidade e permeabilidade vascular; ou pode evoluir para um quadro mais crítico chamado de síndrome do choque da dengue resultando em choque hipovolêmico (KHAN *et al.*, 2023). A dengue apresenta uma variedade de sintomas, incluindo febre com temperaturas entre 39°C e 40°C, cefaléia, mialgia, artralgia, prostração e dor retroorbital (BRASIL, 2024). Essas manifestações clínicas geralmente melhoram entre o terceiro e o sétimo dia após o início dos sintomas, no entanto, a ausência de melhora pode indicar o agravamento da doença. A dengue grave é caracterizada por sintomas como dor abdominal intensa, vômitos persistentes, hepatomegalia, letargia, acúmulo de líquidos nas cavidades corporais, sangramento mucoso e aumento do hematócrito (BRASIL, 2024).

A estrutura do vírus da dengue é composta por sete proteínas não estruturais e três proteínas estruturais (Figura 1). As proteínas não estruturais incluem: Proteína não estrutural 1 (NS1), Proteína não estrutural 2A (NS2A), Proteína não estrutural 2B (NS2B), Proteína não estrutural 3 (NS3), Proteína não estrutural 4A (NS4A), Proteína não estrutural 4B (NS4B) e Proteína não estrutural 5 (NS5). As proteínas estruturais são: a proteína do capsídeo (C), a proteína do envelope (E) e a proteína de pré-membrana (pM) no vírus imaturo, que converte-se na proteína de membrana (M) no vírus maduro (KHAN *et al.*, 2023; UNO; ROSS, 2018). As proteínas não estruturais desempenham papéis cruciais na entrada, replicação, montagem, patogênese e evasão imunológica do vírus no hospedeiro (KHAN *et al.*, 2023; UNO; ROSS, 2018).

FIGURA 1 - ESTRUTURA DO VÍRUS DA DENGUE



Fonte: Adaptado de Souza *et al.*, 2022

A infecção primária pelo DENV induz a ativação das respostas imunológicas adaptativas, envolvendo especificamente as células T e B. Após a entrada do patógeno, as células T são ativadas e sofrem expansão clonal para combater a infecção. Posteriormente a resolução da infecção primária, formam-se células T e B de memória específicas para o DENV, que são mantidas em uma frequência elevada em comparação com outras células imunes (ZELLWEGGER *et al.*, 2015). Essa resposta imunológica pode ser duradoura, potencialmente persistindo por toda a vida. Em uma infecção secundária pelo mesmo sorotipo de DENV (infecção homotípica), o vírus desencadeia uma resposta de memória, ativando respostas altamente específicas das células T e B. No entanto, em um segundo contato com um sorotipo diferente do DENV (infecção heterotípica), os anticorpos primários não conseguem neutralizar efetivamente o novo sorotipo. Em vez disso, podem reagir de forma cruzada com outros sorotipos do DENV, desencadeando a amplificação dependente de anticorpos² (ADE) mediada pelo receptor Fc, além de expandir o pool

² O aumento dependente de anticorpos (ADE) é um fenômeno imunológico no qual, um anticorpo de uma exposição anterior se liga a um vírus sem neutralizá-lo, aumentando sua capacidade de entrada

de células T de memória que apresentam baixa especificidade para o novo sorotipo, resultando em uma depuração viral menos eficiente (ZELLWEGER *et al.*, 2015).

Ao longo das últimas décadas, esforços intensos foram direcionados para o controle da disseminação da dengue, abrangendo desde a implementação de medidas de controle vetorial até a promoção de campanhas de conscientização pública. A complexidade do vírus da dengue, que possui sorotipos distintos, aliada à interação complexa com a resposta imunológica do hospedeiro, torna o desenvolvimento de vacinas eficazes um objetivo desafiador e crucial para o controle da doença (KHAN *et al.*, 2023).

Entre as abordagens em desenvolvimento, estão vacinas vivas atenuadas, vacinas de vírus inativado, vacinas de subunidade recombinante, vacinas de DNA e vacinas de vetor viral, além de estratégias de vacinação heteróloga. O desenvolvimento de vacinas vivas atenuadas tem sido promissor, com algumas candidatas em fases avançadas de testes clínicos. No entanto, a interferência viral, onde um ou mais sorotipos se replicam melhor e dominam a resposta imunológica, tem sido uma barreira significativa. Além disso, as vacinas precisam ser suficientemente atenuadas para não causar sintomas de febre da dengue e devem ser geneticamente estáveis para evitar a reversão ao tipo selvagem do vírus (YAUCH; SHRESTA, 2014).

Dentro desse contexto, o desenvolvimento de vacinas contra a dengue apresenta uma das estratégias mais promissoras e de longo prazo para a prevenção da doença. O processo de desenvolvimento de vacinas contra a dengue tem enfrentado inúmeros obstáculos, incluindo a necessidade de proporcionar imunidade eficaz contra os quatro sorotipos do vírus e a prevenção do fenômeno de amplificação dependente de anticorpos, que pode agravar a doença em indivíduos previamente infectados com diferentes sorotipos.

No dia 21 de dezembro de 2023 a vacina contra a dengue Qdenga, da empresa japonesa Takeda Pharma, foi incorporada no Sistema Único de Saúde

nas células do hospedeiro através dos receptores Fc. Uma vez dentro da célula, o vírus, que não foi neutralizado, inicia sua replicação, resultando em uma alta taxa de infecção celular (SAWANT; PATIL; KURLE, 2023).

(SUS), e entrou no Calendário Nacional de Vacinação no mês de fevereiro de 2024 (BRASIL, 2024).

A revisão da literatura sobre vacinas para dengue é, portanto, de extrema importância para entender os avanços, desafios e perspectivas no campo da imunização contra essa doença. Este trabalho tem como objetivo revisar os principais estudos realizados até o momento, avaliar a eficácia e a segurança das vacinas desenvolvidas, e discutir as novas abordagens e tecnologias que estão sendo exploradas para aprimorar a imunização contra a dengue.

Com isso, espera-se contribuir para uma compreensão mais aprofundada das complexidades envolvidas no desenvolvimento de vacinas contra a dengue e fornecer subsídios para a tomada de decisões informadas em políticas de saúde pública voltadas para o controle dessa doença.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Explorar o atual cenário do desenvolvimento de vacinas no combate ao vírus da dengue.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Indicar os candidatos mais relevantes de vacinas contra DENV;
- b) verificar os principais resultados alcançados em estudos clínicos;
- c) analisar as principais estratégias, progressos e dificuldades no desenvolvimento de vacinas contra o vírus da dengue;
- d) desenvolver uma revisão bibliográfica sobre o tema.

2 METODOLOGIA

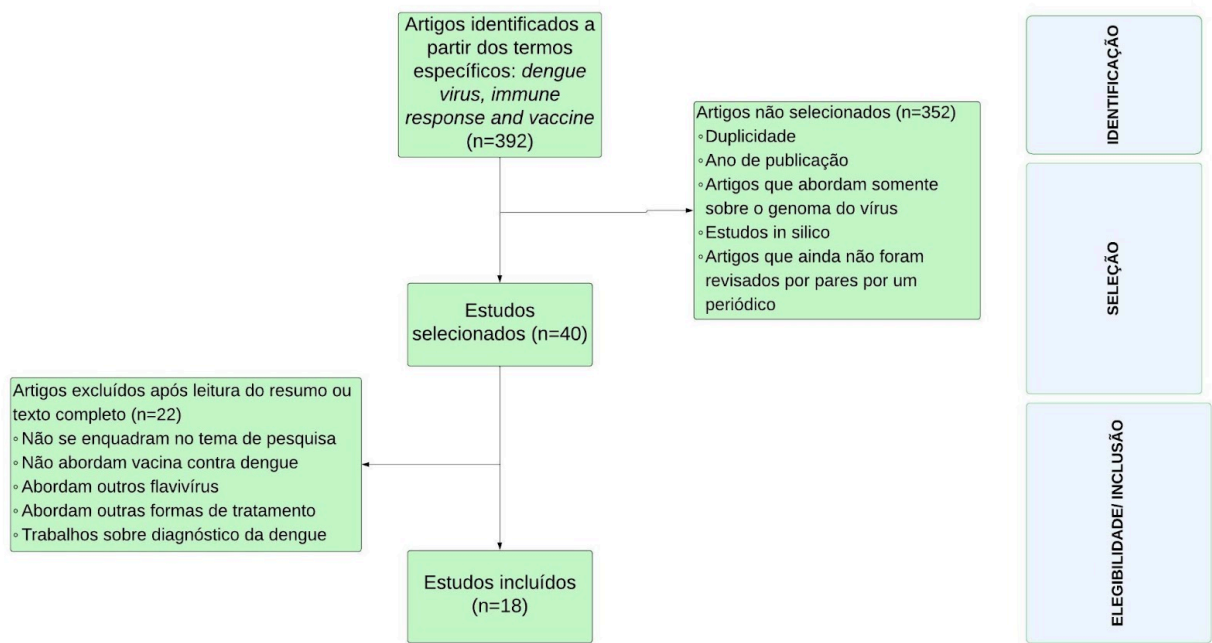
Para a realização desta revisão sistemática de literatura (GALVÃO; PEREIRA, 2014) sobre vacinas para dengue, foi utilizado o banco de dados PubMed³. A busca foi limitada aos últimos cinco anos, a fim de compreender os avanços mais recentes na área. Os termos empregados na busca foram *dengue virus*, *immune response* e *vaccine*, em combinações, para cobrir de forma abrangente os aspectos relevantes ao tema.

Os estudos incluídos na revisão atenderam aos seguintes critérios: ensaios clínicos e revisões sobre vacinas para dengue; publicações que abordam a resposta imunológica ao vírus da dengue; artigos disponíveis no banco de dados PubMed; estudos publicados nos últimos cinco anos. A seleção dos artigos foi realizada em duas etapas: inicialmente análise de títulos e resumos. Foram revisados os títulos e resumos de todos os artigos identificados na busca para excluir os que não se encaixam nos critérios de inclusão. Revisão de texto completo: Os artigos selecionados na primeira etapa foram analisados de forma integral para confirmar sua elegibilidade.

A síntese dos dados foi realizada seguindo o método PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) que permitiu a integração estruturada e transparente dos dados extraídos. Este método incluiu a elaboração de um fluxograma PRISMA (Figura 2), que detalhou o processo de seleção dos estudos e as razões para a exclusão de artigos (PAGE *et al.*, 2022). Os dados extraídos dos artigos selecionados (Quadro 1) foram analisados qualitativamente, discutindo-se os principais achados em relação à eficácia e segurança das vacinas para dengue, bem como as respostas imunológicas observadas. Além disso, foram identificadas as lacunas na literatura e áreas que necessitam de pesquisa adicional.

³ <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

FIGURA 2 - FLUXOGRAMA PRISMA DE SELEÇÃO DOS ARTIGOS



FONTE: Desenvolvido na plataforma Lucidchart⁴ (2024)

⁴ <https://www.lucidchart.com/>

QUADRO 1 - ARTIGOS SELECIONADOS PARA A REVISÃO DE LITERATURA

TÍTULO	TIPO DE ARTIGO	REFERÊNCIA
Long-term efficacy and safety of a tetravalent dengue vaccine (TAK-003): 4·5-year results from a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial	Ensaio clínico fase III	TRICOU <i>et al.</i> , 2024
Effect of single-dose, live, attenuated dengue vaccine in children with or without previous dengue on risk of subsequent, virologically confirmed dengue in Cebu, the Philippines: a longitudinal, prospective, population-based cohort study	Estudo de coorte	YLADE <i>et al.</i> , 2024
Dengue overview: An updated systemic review	Revisão	KHAN <i>et al.</i> , 2023
An open-label, Phase 3 trial of TAK-003, a live attenuated dengue tetravalent vaccine, in healthy US adults: immunogenicity and safety when administered during the second half of a 24-month shelf-life	Ensaio clínico fase III	PATEL <i>et al.</i> , 2023
Phase 1 trial to model primary, secondary, and tertiary dengue using a monovalent vaccine	Ensaio clínico fase I	ODIO <i>et al.</i> , 2023
Safety and immunogenicity of a synthetic nanoparticle-based, T cell priming peptide vaccine against dengue in healthy adults in Switzerland: a double-blind, randomized, vehicle-controlled, phase 1 study	Ensaio clínico fase I	MIAUTON <i>et al.</i> , 2023
Host immunity and vaccine development against Dengue virus	Revisão	MA; CHENG, 2022

TÍTULO	TIPO DE ARTIGO	REFERÊNCIA
Characterization of the cell-mediated immune response to Takeda's live-attenuated tetravalent dengue vaccine in adolescents participating in a phase 2 randomized controlled trial conducted in a dengue-endemic setting	Ensaio clínico fase II	TRICOU <i>et al.</i> , 2022
Dengue Vaccines: The Promise and Pitfalls of Antibody-Mediated Protection	Revisão	MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021
Dengue Vaccines: Ongoing Challenges and Current Status in the Advancement of Different Candidates	Revisão	HASSAN <i>et al.</i> , 2021
Immunogenicity of a Live-Attenuated Dengue Vaccine Using a Heterologous Prime-Boost Strategy in a Phase 1 Randomized Clinical Trial	Ensaio clínico fase I	LIN <i>et al.</i> , 2021
Dengue: A Minireview	Revisão	HARAPAN <i>et al.</i> , 2020
Dengue vaccine: Global development update	Revisão	PROMPETCHARA <i>et al.</i> , 2020
Adaptive Immunity to Dengue Virus: Slippery Slope or Solid Ground for Rational Vaccine Design?	Revisão	WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020
Cell-Mediated Immunity Generated in Response to a Purified Inactivated Vaccine for Dengue Virus Type 1	Ensaio clínico fase I	FRIBERG <i>et al.</i> , 2020

TÍTULO	TIPO DE ARTIGO	REFERÊNCIA
Anti-dengue Vaccines: From Development to Clinical Trials	Revisão	PINHEIRO-MICHELTEN <i>et al.</i> , 2020
Challenges in Dengue Vaccines Development: Pre-existing Infections and Cross-Reactivity	Revisão	IZMIRLY <i>et al.</i> , 2020
Historical discourse on the development of the live attenuated tetravalent dengue vaccine candidate TV003/TV005	Revisão	DURBIN, 2020

FONTE: A autora (2024)

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1. ASPECTOS GERAIS DA DENGUE

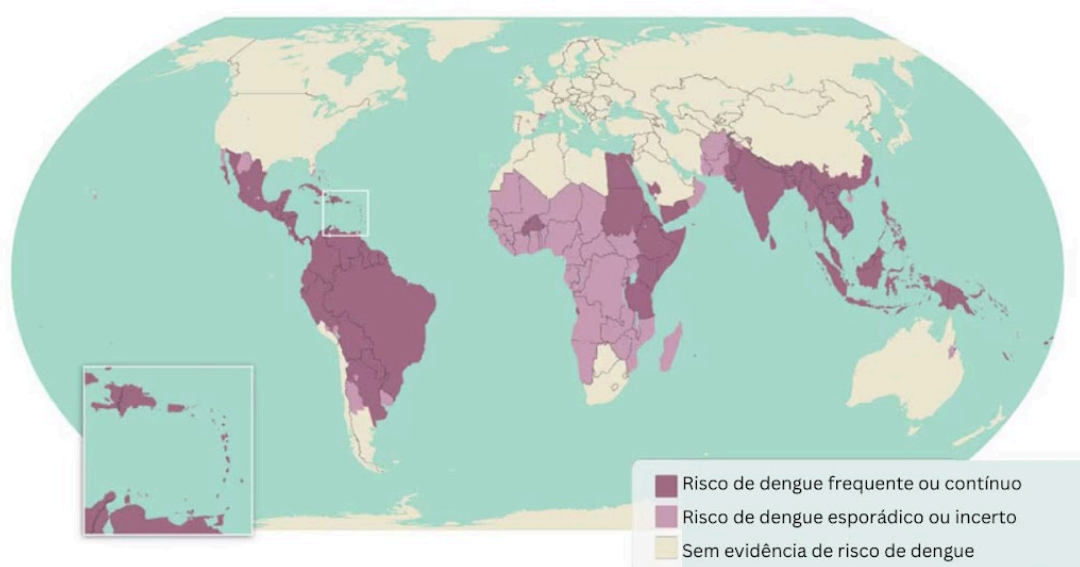
De acordo com o Ministério da saúde, a dengue é uma patologia que pertence ao grupo das arboviroses, que são caracterizadas pela transmissão de vírus por vetores artrópodes. A doença é causada principalmente por quatro sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, que são comuns em áreas urbanas e geram respostas imunes distintas (BRASIL, 2024). Em 2007, um quinto sorotipo (DENV-5) foi descoberto em um paciente na Malásia, porém este sorotipo circula em áreas selvagens e não urbanas (MUSTAFA *et al.*, 2014). A infecção por um sorotipo oferece proteção de longo prazo contra aquele específico, mas aumenta o risco de formas mais graves da doença em exposições seguintes por outros sorotipos, o que torna o desenvolvimento de vacinas complexo.

A dengue representa uma ameaça global à saúde em países tropicais e subtropicais, com um número significativo de infecções estimado em mais de 390 milhões de casos por ano, sendo que 96 milhões deles desenvolvem patologias (IZMIRLY *et al.*, 2020). No Brasil, o principal transmissor da dengue é a fêmea do mosquito *Aedes aegypti*, cujo nome significa "odioso do Egito". O vírus da dengue pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Flavivirus*. A primeira epidemia documentada ocorreu nos anos de 1981 e 1982, em Boa Vista (RR), causada pelos sorotipos 1 e 4. Quatro anos depois, em 1986, epidemias afetaram o estado do Rio de Janeiro e algumas capitais da região Nordeste. Desde então, a dengue tem se manifestado de forma endêmica, alternando com surtos epidêmicos (BRASIL, 2024).

Em 2019, foram registrados diversos casos de infecção por dengue em todo o mundo, com mais de três milhões de casos confirmados pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). O Brasil liderou esse número, com uma estimativa de um milhão e meio de casos no mesmo ano, representando um aumento superior a dez vezes em relação ao ano anterior. Além dos países da América do Sul, a dengue também afeta diversas nações na Ásia, principalmente no Sudeste Asiático, como Bangladesh, Malásia, Maldivas e Filipinas (Figura 3), onde

teve um crescimento significativo de infecções. Países localizados no Oceano Índico, na Austrália e na região do Pacífico também relataram um elevado número de casos. Os casos de dengue não são apenas um problema de saúde, mas também um enorme fardo econômico (IZMIRLY *et al.*, 2020).

FIGURA 3 - MAPA-MÚNDI COM ÁREAS DE RISCO PARA A DENGUE



FONTE: Adaptado de CDC, 2024

Segundo a OMS, a dengue é uma doença sistêmica e dinâmica, apresentando uma gama de sintomas que varia de manifestações leves a graves. Após um período de incubação, a doença geralmente pode ser classificada em três estágios, a fase febril que é caracterizada por febre alta e dor de cabeça. A etapa crítica que ocorre geralmente entre o terceiro e o sétimo dia, nessa fase existe o risco de complicações graves, como hemorragias e choque, principalmente em casos de dengue grave. E o estágio de recuperação onde a temperatura diminui e o paciente começa a se recuperar, embora complicações ainda possam ocorrer (OMS, 2023).

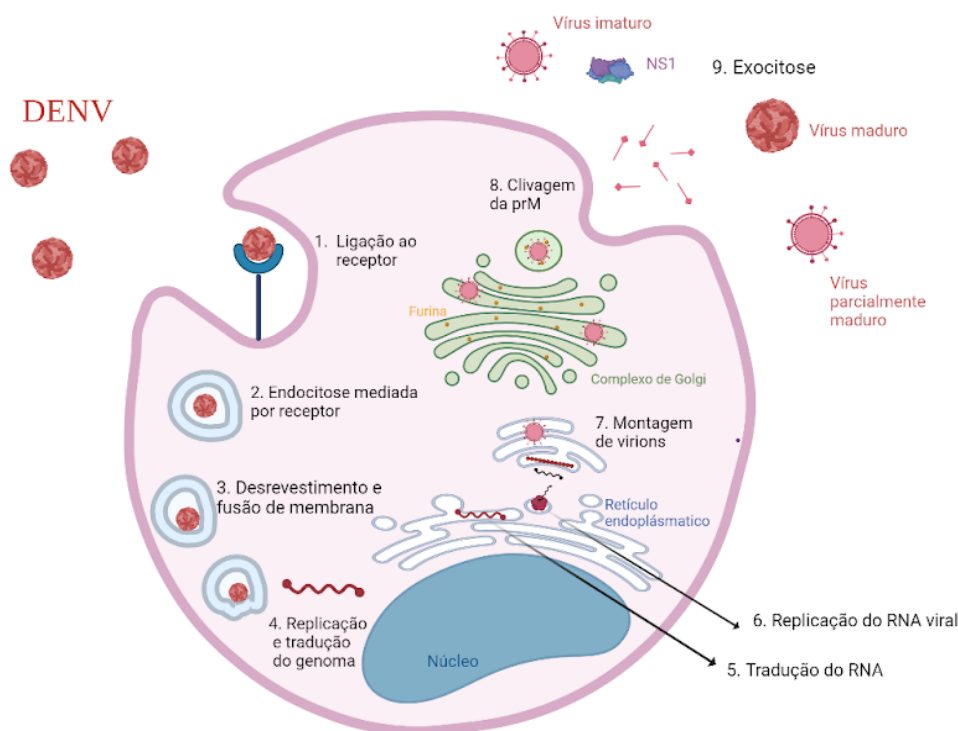
O vírus da dengue é uma partícula de 50 nm com um capsídeo de simetria icosaédrica. Seu genoma, com cerca de 11.000 nucleotídeos, codifica três proteínas estruturais (C, prM e E) e sete proteínas não estruturais (NS1, NS2A/B, NS3, NS4A/B e NS5). A proteína prM é clivada em M, impactando diretamente a transmissão do vírus (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020). A proteína E, responsável pela fusão viral, possui epítomos⁵ neutralizantes, sendo um alvo importante para o desenvolvimento de vacinas e tratamentos antivirais. As proteínas não estruturais, como NS1, NS3 e NS5, desempenham papéis essenciais na replicação viral e na evasão do sistema imune (UNO; ROSS, 2018; HARAPAN *et al.*, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022; KHAN *et al.*, 2023). A NS1, serve como biomarcador da dengue e é um foco importante para a produção de vacinas devido a sua capacidade de induzir uma resposta imunológica ampla (HARAPAN *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022).

O DENV é transmitido para humanos por mosquitos infectados, mas os receptores específicos que ele utiliza nas células humanas ainda não são totalmente conhecidos. Os receptores propostos são o heparan sulfato, DC-SIGN e HSP70/90 (UNO; ROSS, 2018; HARAPAN *et al.*, 2020; KHAN *et al.*, 2023). As células suscetíveis à infecção incluem células dendríticas, endoteliais, fibroblastos, macrófagos e mastócitos. Após a ligação aos receptores, o DENV entra na célula por meio de endocitose mediada por clatrina. A acidificação do endossomo faz o vírus mudar de forma, o que permite a fusão com a membrana e a liberação do genoma viral no citoplasma, onde a replicação ocorre em estruturas de membrana celular alteradas pelo vírus (UNO; ROSS, 2018; HARAPAN *et al.*, 2020). O RNA viral é traduzido em uma única poliproteína, que é clivada por proteases do hospedeiro e do vírus. Em seguida, o vírus é montado e transportado para o aparelho de Golgi,

⁵ Um epítopo é a menor parte funcional de um antígeno que liga-se a um receptor imunológico específico, como um anticorpo ou um receptor de células T (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

onde a prM é clivada, formando vírions maduros e infecciosos que são liberados por exocitose. Porém, alguns vírions passam por uma clivagem incompleta da prM e partículas imaturas são secretadas (Figura 4) (UNO; ROSS, 2018).

FIGURA 4 - CICLO DE REPLICAÇÃO DO DENV



FONTE: Adaptado de UNO; ROSS, 2018, no BioRender⁶.

LEGENDA: O vírus liga-se aos receptores da célula hospedeira (1) e é internalizado, por meio de um processo de endocitose mediada por receptores (2). A acidificação do endossomo provoca uma alteração na conformação da glicoproteína E, permitindo que o vírus se funda com a membrana endossômica (3) e libere seu RNA genômico no citoplasma. A tradução e replicação desse RNA ocorre no retículo endoplasmático (4). O ribossomo da célula hospedeira traduz diretamente o RNA viral em uma poliproteína, que é clivada por proteases da célula hospedeira e do vírus, formando proteínas estruturais e não estruturais (5). A replicação do RNA é realizada em vesículas de membrana, onde o complexo de replicação viral utiliza as proteínas transmembranas NS2a, NS2b, NS4a e NS4b como suporte (6). Durante a montagem, o genoma viral é empacotado em partículas virais imaturas (7). Essas partículas passam pelo aparelho de Golgi, onde as proteases semelhantes à furina clivam a proteína prM (8), e os vírions maduros são liberados da célula por exocitose (9). Alguns peptídeos não são clivados, resultando em vírions imaturos e não infecciosos ou parcialmente maduros. Além disso, a proteína NS1 solúvel também é secretada.

⁶ <https://biorender.com/>

3.2 A RESPOSTA IMUNE DO HOSPEDEIRO

A resposta imune inata é o mecanismo de defesa inicial do organismo contra infecções e está presente desde o nascimento do indivíduo. É uma resposta rápida e com poucas especificidades que não depende de uma exposição anterior ao patógeno. Em vez disso, ela reconhece padrões comuns a muitos tipos de microrganismos, através de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como os receptores do tipo Toll (TLRs) e receptores de lectina (COICO; SUNSHINE, 2009).

A resposta imune adaptativa é caracterizada por sua ampla gama de especificidades e memória imunológica. Diferente da resposta inata, que é rápida e generalizada, a imunidade adaptativa é muito específica para o patógeno invasor e melhora ao longo do tempo. Ela também tem a capacidade de gerar células de memória, proporcionando uma resposta mais rápida e eficaz em futuras infecções (COICO; SUNSHINE, 2009).

3.2.1 A resposta imune inata

A transmissão do vírus da dengue ocorre através da picada de mosquitos infectados. Após a infecção, o patógeno se replica nas células da pele, como queratinócitos e células de Langerhans, o que desencadeia uma cascata complexa de respostas imunes inatas mediadas por diversas proteínas (UNO; ROSS, 2018). Células dendríticas (DCs), macrófagos e monócitos detectam o DENV por meio dos receptores de reconhecimento de padrões, como o gene I induzível por ácido retinóico (RIG-I), a proteína 5 associada à diferenciação do melanoma (MDA 5) e os receptores Toll-like TLR3 e TLR7, presentes nos compartimentos endossomais e que reconhecem o RNA viral (UNO; ROSS, 2018; HARAPAN *et al.*, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020).

RIG-I e MDA5 estão no citoplasma e detectam o RNA viral, ativando a proteína MAVS (proteína de sinalização antiviral mitocondrial) na mitocôndria e levando à produção de interferons (IFN) tipo I, que induz o estado antiviral. Os ligantes exatos desses receptores ao RNA do DENV ainda não são conhecidos, mas sabe-se que o TLR3 identifica RNA de fita dupla (dsRNA) em compartimentos endossomais, enquanto o TLR7 reconhece RNA de fita simples (ssRNA), participando da resposta antiviral. Além disso, uma via chamada cGAS-STING é ativada durante a infecção por DENV devido a danos mitocondriais, resultando na liberação de DNA mitocondrial no citoplasma, o que também leva a secreção de interferons tipo I (IZMIRLY *et al.*, 2020; UNO; ROSS, 2018).

Os PRRs também ativam o fator nuclear kappa B⁷ (NF-κB), provocando a secreção de IFN-α/β e citocinas inflamatórias (IZMIRLY *et al.*, 2020). Essas quimiocinas e citocinas estimulam uma resposta antiviral, mas também podem ser desvantajosas, modificando a barreira de fluidos do endotélio, levando a um elevado vazamento do plasma (HARAPAN *et al.*, 2020). O IFN-γ é uma citocina essencial, pois controla a replicação viral e contribui para a resistência à infecção. Níveis elevados de IFN-γ foram relacionados a uma proteção significativa contra febre e a alta viremia, resultando em maiores taxas de sobrevivência em pacientes com dengue grave (HARAPAN *et al.*, 2020). No entanto, algumas citocinas pró-inflamatórias têm efeitos adversos no avanço da doença. O TNF-α (fator de necrose tumoral alfa), está ligado ao agravamento da dengue e à trombocitopenia⁸. Este fator também aumenta a permeabilidade das células endoteliais *in vitro*. Outra citocina relevante, a Interleucina-10 (IL-10), possui uma ligação com a degradação das plaquetas nos pacientes infectados, além de modular a ativação da coagulação (HARAPAN *et al.*, 2020).

Segundo Uno e Ross (2018), o sistema complemento também desempenha um papel fundamental na resposta imune inata ao DENV. A via da lectina de ligação

⁷ O fator nuclear kappa B é uma proteína que possui um papel fundamental na regulação de genes responsáveis por diversas respostas biológicas, principalmente aquelas relacionadas ao sistema imunológico, inflamação e sobrevivência celular (FRANCO, 2010).

⁸ A trombocitopenia é uma condição em que há uma quantidade reduzida e anormal de plaquetas no sangue. Também conhecidas como trombócitos, essas células desempenham um papel crucial na coagulação, ajudando a evitar sangramentos (KUTER, 2024).

à manose (MBL) fornece proteção neutralizante ligando-se às superfícies do DENV que contêm glicanos de manose, contribuindo para o reconhecimento do vírus. Esse processo ativa a cascata do complemento, que envolve a clivagem das proteínas C4 e C2, formando a enzima C3 convertase, o que resulta na formação do complexo de ataque à membrana (MAC), que provoca a lise do vírus, o recrutamento de fagócitos e a inflamação (UNO; ROSS, 2018).

Outros mecanismos envolvidos na imunidade inata incluem RNA de interferência (RNAi), autofagia e apoptose. O RNAi, por meio de pequenos RNAs que formam o complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC), atua na inibição e degradação do mRNA viral (UNO; ROSS, 2018). A autofagia é um processo celular que regula a manipulação e reciclagem de componentes celulares, e é frequentemente ativado durante infecções. No caso do DENV, a autofagia pode ter efeitos antivirais inibindo a replicação em monócitos, por exemplo, como também pode ter efeitos pró-virais, facilitando a replicação em células hepáticas. Nas células do fígado, o DENV impede a fusão entre autofagossomos e lisossomos, utilizando-os para replicação e para fugir da neutralização por anticorpos (UNO; ROSS, 2018). Por fim, a apoptose, um processo de morte celular controlada, também pode ser causada por infecções virais.

As respostas inatas mencionadas irão induzir a maturação das células dendríticas e a ativação dos linfócitos B e T, promovendo a resposta imune adaptativa (IZMIRLY *et al.*, 2020).

3.2.2 Evasão do sistema imune

O vírus da dengue possui diversas estratégias para superar o sistema imunológico do hospedeiro e garantir sua replicação. Uma de suas táticas é o uso de proteínas não estruturais para bloquear os mecanismos de sinalização antiviral. A NS5, por exemplo, impede o reconhecimento do vírus pelo RIG-I, enquanto a NS3 impede que o RIG-I se desloque para as mitocôndrias, e a NS4a impede a interação do RIG-I com a proteína MAVS, prejudicando a ativação das defesas antivirais

(IZMIRLY *et al.*, 2020; UNO; ROSS, 2018). Além disso, o vírus suprime a produção de IFN, essencial na resposta imunológica, através de proteínas como NS2a, NS4b e NS4a. A protease NS2b/3 contribui para isso ao clivar a proteína STING (estimulador de genes de interferon), que é fundamental para a produção de IFN (UNO; ROSS, 2018). A proteína NS5 também atua nesse processo ao inibir a ativação de genes estimulados por IFN (ISGs), bloqueando o recrutamento do complexo de transcrição PAF1C (IZMIRLY *et al.*, 2020).

Em relação a resposta do sistema complemento, o vírus utiliza a proteína NS1 para impedir a formação da C3 convertase e bloquear a formação do complexo de ataque à membrana (MAC), ligando-se a componentes como C4, C1s, vitronectina e clusterina, o que impossibilita a inativação do vírus (UNO; ROSS, 2018). O DENV também afeta a via de RNAi, que regula o mRNA antiviral. Um dos mecanismos utilizados é a produção de um RNA subgenômico (sfRNA) a partir da região 3' não traduzida do RNA viral. Esse sfRNA inibe a clivagem do RNA fita dupla pela enzima Dicer, prejudicando a resposta antiviral inata do hospedeiro (IZMIRLY *et al.*, 2020). Ainda, a proteína NS4b desempenha um papel importante ao modular a via RNAi/miRNA do hospedeiro, facilitando a replicação viral. Além disso, o DENV interfere na apoptose nas fases iniciais da infecção, com a ajuda da proteína C, permitindo que o vírus continue se replicando sem ser eliminado pelas células infectadas (UNO; ROSS, 2018). Essas diferentes estratégias permitem ao DENV escapar das respostas imunológicas e criar um ambiente favorável para sua replicação no organismo.

3.2.3 A resposta imune adaptativa humoral

Durante a infecção por DENV, a imunidade humoral, mediada por anticorpos, desempenha um papel crucial na defesa do organismo. Os anticorpos neutralizantes produzidos têm como alvos principais as proteínas virais prM, E e NS1. A proteína E é responsável por desencadear a produção de anticorpos essenciais para a neutralização do vírus, enquanto a NS1 estimula a citotoxicidade

celular e a destruição de células infectadas com a ajuda do sistema complemento (HARAPAN *et al.*, 2020). Durante a infecção primária pelo DENV, as células B específicas para o vírus são ativadas, resultando na geração de células plasmáticas de longa duração (LLPCs), que produzem anticorpos e se alojam na medula óssea, além das células B de memória (MBCs), que circulam pelo sangue e pelos órgãos linfoides secundários (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; MA; CHENG, 2022). A avaliação de anticorpos monoclonais e soros policlonais de indivíduos que tiveram uma infecção primária, mostrou que a maioria dos anticorpos gerados é reativa cruzada e pouco neutralizante, somente uma pequena parcela dos anticorpos é altamente eficaz na neutralização específica de sorotipos (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020). Segundo Harapan *et al.* (2020), a infecção com um sorotipo específico do DENV oferece imunidade de longo prazo contra aquele sorotipo (imunidade homotípica). Contudo, anticorpos que não neutralizam completamente o vírus podem facilitar a infecção de células hospedeiras, levando a amplificação dependente de anticorpos.

Entre as imunoglobulinas, os anticorpos IgM aparecem no sangue entre três e cinco dias de infecção em cerca de metade dos pacientes e em 99% dentro de dez dias. Os níveis de IgM atingem o pico em duas semanas e diminuem gradativamente, até serem indetectáveis entre dois e três meses (HARAPAN *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022). Já os níveis de IgG aumentam mais lentamente, mas continuam detectáveis por meses ou até anos, proporcionando uma proteção duradoura contra o sorotipo específico do DENV (HARAPAN *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022). Em infecções secundárias, os níveis de IgG permanecem elevados enquanto os de IgM aumentam de forma gradual. A razão IgG/IgM maior ou igual a 1,10, é usada para diagnosticar infecções secundárias (MA; CHENG, 2022). Nas infecções secundárias por dengue, a resposta dos anticorpos ocorre mais rapidamente e apresenta uma forte reatividade cruzada com outros flavivírus, sendo o IgG o principal tipo de anticorpo observado (HARAPAN *et al.*, 2020). Os anticorpos têm uma função fundamental na neutralização do vírus, porém, para neutralizar efetivamente o DENV, é necessário que uma quantidade crítica de anticorpos se

ligue ao vírus, apesar desse número exato ainda não ser identificado (MA; CHENG, 2022).

De acordo com Wilken e Rimmelzwaan (2020), a neutralização de flavivírus realizada por anticorpos parte de um fenômeno chamado de "múltiplos acertos", no qual a neutralização eficaz ocorre quando os anticorpos se ligam aos vírions em quantidade suficiente para exceder um limite específico, cerca de 30 locais de ligação. Se a ligação dos anticorpos fica abaixo desse limite, eles não conseguem neutralizar o vírus e, em vez disso, facilitam sua entrada em células por meio de receptores Fc (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020).

Segundo Ma e Cheng (2022) a neutralização do DENV por anticorpos é influenciada por três fatores principais. Primeiro, a disponibilidade dos epítomos na superfície viral, visto que, epítomos ocultos podem dificultar a resposta imune. A estrutura do vírus muda em resposta ao pH e à temperatura, exibindo epítomos que antes estavam ocultos, mecanismo chamado de respiração viral, facilitando a ligação e neutralização por anticorpos (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; MA; CHENG, 2022). Outros fatores de neutralização do vírus incluem a afinidade e a avidéz dos anticorpos, que definem a força de ligação aos antígenos. A maturação da afinidade é essencial para produzir anticorpos eficientes, aumentando também a capacidade de induzir a citotoxicidade celular dependente de anticorpos (MA; CHENG, 2022). Por fim, a concentração de anticorpos, que reflete os níveis de anticorpos séricos. Níveis intermediários de anticorpos podem aumentar o risco de desenvolver dengue grave, como verificado em indivíduos vacinados com Dengvaxia, principalmente aqueles soronegativos antes da vacinação (MA; CHENG, 2022). Esses fatores são cruciais para entender como os anticorpos agem na proteção contra o DENV e para o desenvolvimento de vacinas eficazes que possam evitar casos graves da doença.

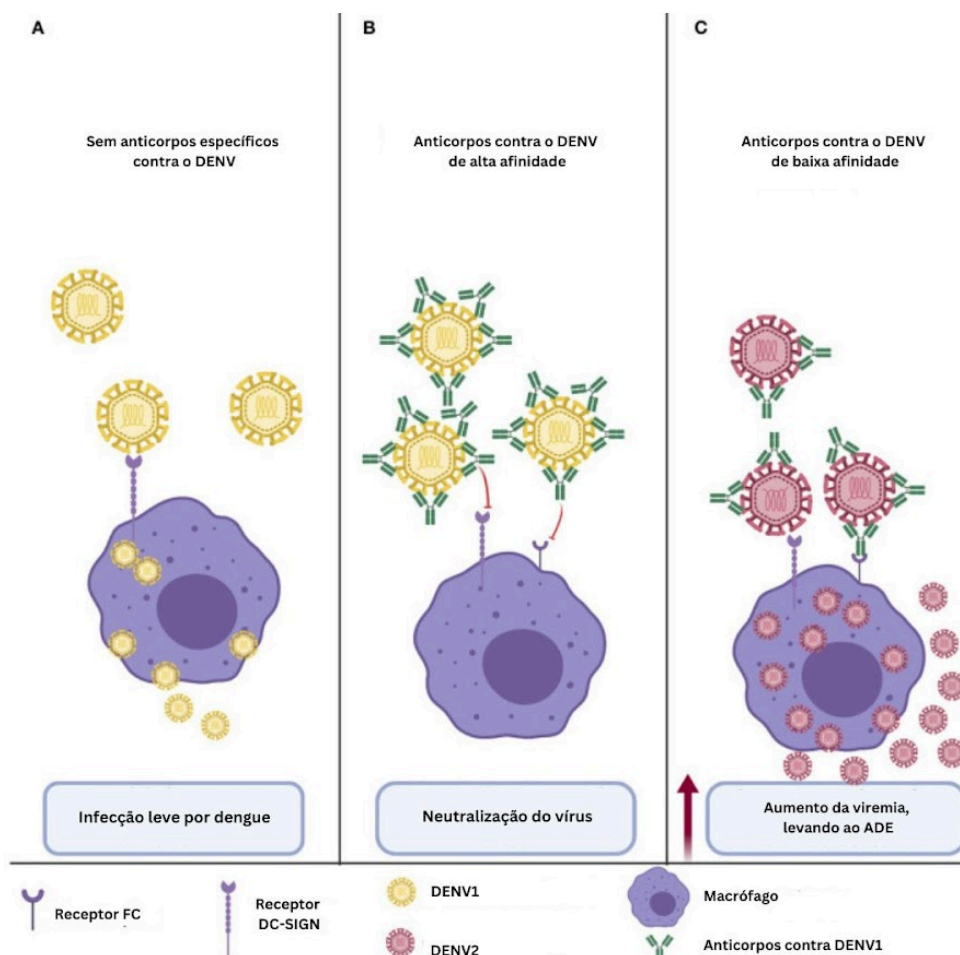
3.2.3.1 Amplificação dependente de anticorpos

A patogênese da dengue é influenciada por fatores virais e do hospedeiro, porém muitos aspectos ainda não são completamente compreendidos. A dengue grave pode ocorrer durante uma infecção secundária com diferentes sorotipos do DENV, assim como, em recém-nascidos de mães imunizadas (HARAPAN *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022; KHAN *et al.*, 2023). Os anticorpos, que são fundamentais para a neutralização do vírus, podem facilitar a entrada do patógeno nas células, fenômeno chamado de amplificação ou aumento dependente de anticorpos (ADE). De acordo com Izmirly *et al.* (2020), este mecanismo ocorre quando anticorpos de infecções prévias não fornecem proteção, ao invés disso, auxiliam a entrada do vírus na célula, resultando em uma viremia elevada (Figura 5). O ADE foi observado em diversos vírus, incluindo HIV e Ebola. Esse fenômeno tem um intenso impacto na infecção por DENV, uma vez que anula a resposta imune antiviral, o que resulta em maior produção de partículas virais (IZMIRLY *et al.*, 2020). O mecanismo mais comum envolve o receptor Fc (FcR). Os complexos formados por vírus e anticorpos se aderem a células que expressam FcR, como macrófagos e monócitos, aumentando a ligação ao DENV (HARAPAN *et al.*, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022; KHAN *et al.*, 2023). Um outro meio possível inclui a ativação da via clássica do sistema complemento, que auxilia a entrada do vírus em células não imunológicas (HARAPAN *et al.*, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020).

O ADE ocorre em indivíduos que foram anteriormente infectados por sorotipos diferentes ou em resposta a uma vacinação inadequada. Os anticorpos direcionados aos antígenos prM e E podem aumentar a entrada do DENV nas células-alvo, estudos indicam que controlar a resposta anti-prM na produção de vacinas pode ajudar a reduzir o ADE (IZMIRLY *et al.*, 2020). Segundo Ma e Cheng (2022), além do aumento da viremia provocado pelos mecanismos descritos anteriormente, o ADE também leva a uma inibição de INF-I e IL-10, aumentando a carga viral. Entender os mecanismos que levam a amplificação dependente de anticorpos é de suma importância, uma vez que, esse fenômeno pode levar a uma

evolução da dengue para formas graves, como a síndrome do choque da dengue (HARAPAN *et al.*, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022).

FIGURA 5 - AMPLIFICAÇÃO DEPENDENTE DE ANTICORPOS



FONTE: Adaptado de IZMIRLY *et al.*, 2020.

LEGENDA: Em uma primeira infecção, o DENV entra no macrófago através de seu receptor específico, mas na maioria das vezes, isso resulta em uma forma leve da doença ou até mesmo assintomática (A). Quando há anticorpos neutralizantes contra o mesmo sorotipo do DENV, o vírus não consegue entrar nas células, impedindo a infecção (B). Se houver anticorpos de uma vacinação anterior ineficaz ou de uma infecção por um sorotipo diferente de dengue, esses anticorpos se ligarão ao vírus, mas não irão neutralizá-los (C). Essa ligação permite que o vírus entre no macrófago por meio do receptor Fc, levando a ADE e aumentando a viremia.

3.2.4 A resposta imune adaptativa celular

Devido a amplificação dependente de anticorpos que pode ocorrer na dengue, a imunidade celular vem sendo mais estudada. As células T, que se dividem em CD4⁺ e CD8⁺, são fundamentais para a resposta imune celular. As células T CD8⁺, também conhecidas como linfócitos citotóxicos, eliminam diretamente as células infectadas e controlam a propagação viral através da liberação de citocinas, como IFN- γ e TNF- α . Já as células T CD4⁺ amplificam a resposta imune, ajudando na ativação das células B e as T CD8⁺ (IZMIRLY *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022). A eficácia dessa resposta depende da afinidade do receptor das células T (TCR) pelo complexo HLA-peptídeo (sistema de antígenos leucocitários humanos) (HARAPAN *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020).

Enquanto os anticorpos contra o DENV reconhecem principalmente proteínas estruturais, a imunidade celular responde tanto a proteínas estruturais quanto não estruturais. As células T CD8⁺ reconhecem peptídeos não estruturais, como NS3, NS4b e NS5 em infecções por DENV1, DENV2 e DENV4. Já as células T CD4⁺ reconhecem peptídeos de proteínas estruturais, como capsídeo, a proteína do envelope e a proteína não estrutural NS1 (IZMIRLY *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; MA; CHENG, 2022).

Estudos em animais confirmam que a imunidade celular, especialmente mediada pelas células T CD8⁺, é crucial para a eliminação do vírus. Em experimentos com camundongos, observou-se que a falta dessas células resultou em uma carga viral maior, ao passo que o estímulo de respostas celulares específicas levou à eliminação do vírus (IZMIRLY *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; MA; CHENG, 2022). Pacientes com infecções leves apresentaram uma maior produção de IFN- γ e TNF- α por células T, indicando que essa resposta possui efeitos na gravidade da doença (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020). Portanto, uma resposta imune completa contra o DENV depende da presença tanto de anticorpos neutralizantes quanto de células T.

Entretanto, a imunidade celular também pode gerar danos. No fenômeno conhecido como “pecado antigênico original”, a resposta das células T a um sorotipo de DENV anterior é mais forte do que ao sorotipo atual (HARAPAN *et al.*, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020). Em uma primeira infecção, são geradas células T de memória que reagem a sorotipos distintos. Na infecção secundária por um sorotipo diferente, ocorre a ativação de células T CD8+ reativas cruzadas, levando a uma produção acentuada de citocinas pró-inflamatórias, a chamada “tempestade de citocinas” (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; KHAN *et al.*, 2023). Além disso, também há um aumento de células T CD8+ de baixa afinidade, que possuem uma menor capacidade de destruir células infectadas, ampliando a infecção (HARAPAN *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; KHAN *et al.*, 2023). Esse processo prejudica a eliminação do DENV, leva a uma ativação prolongada das células T e produção exacerbada de citocinas e outros fatores inflamatórios, aumentando a permeabilidade vascular, o que resulta em formas graves da doença (HARAPAN *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020).

A intensidade do estímulo do receptor de células T também influencia os tipos de citocinas produzidas: uma estimulação fraca resulta na produção de CCL4, já uma estimulação mais intensa leva a produção de IFN- γ (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020). Além disso, alelos HLA de classe I e classe II foram relacionados a uma maior propensão a formas graves de dengue (KHAN *et al.*, 2023). Em relação às células T CD4+, foi verificado que quando estimuladas por antígenos de sorotipos diferentes, elas podem lisar células não infectadas e liberar citocinas pró-inflamatórias, o que está associado a um aumento do risco de hospitalização (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020).

3.3 REVISÃO DAS VACINAS DISPONÍVEIS E EM DESENVOLVIMENTO

O desenvolvimento de uma vacina eficaz contra a dengue enfrenta desafios significativos, principalmente devido aos quatro sorotipos diferentes do DENV. Os quatro sorotipos de DENV compartilham pelo menos 65% de similaridade genética,

mas cada sorotipo apresenta uma variação (MA; CHENG, 2022). Além disso, o fenômeno de amplificação dependente de anticorpos, representa mais um obstáculo (IZMIRLY *et al.*, 2020, TRICOU *et al.*, 2024). A vacina ideal contra a dengue deve produzir anticorpos neutralizantes rápidos e altamente protetores, de longo prazo, específicos contra todos os sorotipos do DENV, independentemente do estado imunológico individual e da idade da vacinação (HARAPAN *et al.*, 2020). Assim como, ser econômica e não requerer doses de reforço repetidas, especialmente porque a dengue afeta predominantemente países em desenvolvimento com infraestrutura de saúde limitada. A vacina também deve ser geneticamente estável, ecologicamente correta e de fácil acesso a toda a população (HARAPAN *et al.*, 2020). Além disso, é preferível que possua métodos simples de armazenamento e seja fácil de transportar (HASSAN *et al.*, 2021). Entretanto, devido à rápida evolução do vírus, a grande variação genética entre sorotipos e genótipos, e o risco de desenvolver o ADE, nenhum candidato atingiu todos esses critérios (HARAPAN *et al.*, 2020).

As vacinas são amplamente consideradas como a estratégia mais eficaz no combate a doenças. Por este motivo, esforços constantes têm sido direcionados ao desenvolvimento de uma vacina eficaz contra a dengue. Desde a década de 1920, foram criados cinco tipos principais de vacinas, incluindo as de vírus atenuado, inativadas, de subunidade recombinante, de vetor viral e de DNA/mRNA, cada uma apresentando vantagens e limitações específicas (MA; CHENG, 2022).

A proteína E é essencial no processo de infecção, pois facilita a ligação e a entrada do vírus da dengue na célula hospedeira, sendo um dos principais alvos para o desenvolvimento de vacinas contra flavivírus, no entanto, ela pode desencadear o ADE (KHAN *et al.*, 2023). Isso motivou o uso de antígenos alternativos na criação de vacinas, como as proteínas NS1 e prM. A NS1 tem se demonstrado promissora como alvo para vacinas, devido à sua relação com a gravidade da doença e à presença de altos níveis de anticorpos anti-NS1 em pacientes recuperados (KHAN *et al.*, 2023). A proteína NS1 também apresenta maior conservação entre os quatro sorotipos da dengue e menor risco de levar ao ADE comparado à proteína E. Contudo, Khan *et al.* (2023) também afirmam que

vacinas baseadas em NS1 podem gerar anticorpos que acometem tecidos do próprio organismo, devido ao mimetismo molecular.

A presente revisão concentrou-se em três vacinas vivas atenuadas, das quais duas já receberam licença para uso e uma encontra-se nas fases finais de ensaios clínicos: CYD-TDV (Dengvaxia), TAK-003 (Qdenga) e TV003, respectivamente. Também foram abordadas as plataformas de vacinas de vírus inativados, vacinação heteróloga, vacina de subunidade, vacina de DNA/mRNA, vacina de vetor viral e de peptídeo sintético (Quadro 2).

QUADRO 2 - COMPARATIVO ENTRE VACINAS DISPONÍVEIS E EM DESENVOLVIMENTO.

Vacina	Tipo de Vacina	Abordagem Utilizada	Vantagens	Desvantagens	Referências
Dengvaxia (CYD-TDV)	Vacina Viva Atenuada	Abordagem quimérica, estrutura baseada no vírus da febre amarela (YFV), expressando as proteínas prM e E dos quatro sorotipos DENV.	Alta taxa de soroconversão dos quatro sorotipos de DENV; proteção de longo prazo.	Eficácia parcial; mais segura para indivíduos soropositivos; risco de ADE; não induz imunidade celular.	DURBIN, 2020; HARAPAN et al., 2020; IZMIRLY et al., 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN, 2020; PROMPETCHARA et al., 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; HASSAN et al., 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; MA; CHENG, 2022; ODIO et al., 2023.
Qdenga (TAK-003)	Vacina Viva Atenuada	Vacina quimérica, estruturada pela cepa PDK-53 atenuada de DENV2 e três vírus quiméricos que expressam os genes prM e E de DENV1, DENV3 e DENV4.	Alta eficácia em diferentes grupos etários; bem tolerada; proteção ampla e duradoura; redução de casos graves.	Pode exigir várias doses; eficácia variável entre os diferentes sorotipos.	IZMIRLY et al., 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN, 2020; PROMPETCHARA et al. 2020; HASSAN et al., 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; MA; CHENG, 2022; TRICOU et al., 2022; ODIO et al., 2023; PATEL et al., 2023; TRICOU et al., 2024.

Vacina	Tipo de Vacina	Abordagem Utilizada	Vantagens	Desvantagens	Referências
TV003	Vacina Viva Atenuada	Baseada em uma exclusão de 30 nucleotídeos 3' UTR do genoma viral das cepas DENV-1 (DEN1Δ30) e DENV-4 (DEN4Δ30), com três vírus de comprimento total e um quimérico.	Proteção promissora contra os quatro sorotipos; resposta imune robusta e equilibrada com apenas uma dose.	Necessário mais estudos de acompanhamento de segurança a longo prazo.	DURBIN, 2020; IZMIRLY <i>et al.</i> , 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; PROMPETCHARA <i>et al.</i> 2020; HASSAN <i>et al.</i> , 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; MA; CHENG, 2022; ODIO <i>et al.</i> , 2023.
TDEN	Vacina Viva Atenuada	Vírus enfraquecidos por meio de passagens seriadas em células PDK.	Produção e armazenamento simples; demonstrou eficácia e segurança em ensaios clínicos.	Necessita de mais dados clínicos e de segurança.	IZMIRLY <i>et al.</i> , 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN <i>et al.</i> , 2020.
TDENV PIV	Vacina de vírus Inativado	Vacina purificada e inativada com formalina, composta de vírus inativado dos quatro sorotipos.	Segura, sem risco de reativação do vírus; resposta imunogênica moderada; recomendada para indivíduos imunocomprometidos.	Eficácia limitada contra todos os sorotipos; resposta imune menos robusta; necessidade de adjuvantes e doses de reforço.	FRIBERG <i>et al.</i> , 2020; IZMIRLY <i>et al.</i> , 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN <i>et al.</i> , 2020; PROMPETCHARA <i>et al.</i> , 2020; HASSAN <i>et al.</i> , 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; KHAN <i>et al.</i> , 2023.
DEN-80	Vacina de Subunidade	Desenvolvida utilizando os ectodomínios da proteína E de cada sorotipo, representando 80% da proteína total, com	Eficácia promissora com resposta de anticorpos neutralizantes e de células T; menor risco de efeitos	Resposta imune limitada, exigindo doses de reforço; requer adição de adjuvantes;	IZMIRLY <i>et al.</i> , 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN, 2020; PROMPETCHARA <i>et al.</i> , 2020; HASSAN <i>et al.</i> , 2021;

Vacina	Tipo de Vacina	Abordagem Utilizada	Vantagens	Desvantagens	Referências
		adição do adjuvante ISCOMATRIX.	adversos graves.	necessita de mais estudos clínicos em larga escala.	MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; KHAN <i>et al.</i> , 2023.
D1ME100	Vacina de DNA	Vacina monovalente baseada nos genes que codificam as proteínas prM e E do DENV-1, sob o controle do promotor do citomegalovírus do vetor plasmidial VR1012	Alta estabilidade; segura; baixo custo e produção simples.	Eficácia limitada; baixa imunogenicidade; necessidade de doses múltiplas e de adição de adjuvantes.	IZMIRLY <i>et al.</i> , 2020; HARAPAN <i>et al.</i> , 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN <i>et al.</i> , 2020; PROMPETCHARA <i>et al.</i> , 2020; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; HASSAN <i>et al.</i> , 2021; MA; CHENG, 2022; KHAN <i>et al.</i> , 2023.
PepGNP - Dengue	Vacina de peptídeo sintético	Produzida com peptídeos sintéticos DENV multivalentes seletivos para células T, transportados em nanopartículas de ouro ultra pequenas (GNPs), em camadas com carboidratos simulando um padrão bacteriano (vacina auto adjuvante).	Bem tolerada; segura; eficaz na resposta celular em doses baixas; sem risco de ADE.	Mais ensaios clínicos são necessários para avaliar a eficácia; não induz resposta humoral; menor eficácia em altas doses.	MIAUTON <i>et al.</i> , 2023.

Fonte: A autora (2024)

3.3.1 Vacina viva atenuada

As vacinas vivas atenuadas (LAVs - do inglês “live attenuated vaccine”) são produzidas utilizando patógenos enfraquecidos para conter sua virulência, disponibilizando uma diversidade de antígenos e fornecendo uma resposta imunológica duradoura (MA; CHENG, 2022; KHAN *et al.*, 2023). São consideradas um recurso promissor e econômico no desenvolvimento de vacinas contra a dengue, visto que, se replicam bem em culturas de células e induzem níveis de anticorpos próximos aos da infecção natural em primatas. No entanto, deve haver uma maior atenção para o uso dessas vacinas em indivíduos soronegativos, pois eles podem ser mais sujeitos às formas graves da doença, consequentemente, possuem um risco maior de hospitalização (KHAN *et al.*, 2023). O desenvolvimento dessas vacinas enfrenta desafios, incluindo a necessidade de reduzir a toxicidade viral, garantir a estabilidade genética, impedir a reversão do vírus e evitar possíveis interferências em vacinas que utilizam diversos componentes (KHAN *et al.*, 2023).

3.3.1.1 CYD-TDV (Dengvaxia)

Fabricada pela Sanofi Pasteur, do grupo farmacêutico francês Sanofi, a CYD-TDV (Dengvaxia) é uma vacina tetravalente viva atenuada. Ela foi licenciada em 2015, sendo a primeira vacina contra a dengue licenciada no mundo e está em uso em mais de vinte países (PINHEIRO-MICHELSSEN *et al.*, 2020). Foi desenvolvida usando uma abordagem quimérica, isto é, sua espinha dorsal é baseada no vírus da febre amarela (YFV), expressando as proteínas prM e E dos quatro sorotipos do DENV, sem as proteínas não estruturais NS3 e NS5 (DURBIN, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; HASSAN *et al.*, 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021;

MA; CHENG, 2022). Três doses da vacina são aplicadas com seis meses de intervalo, garantindo uma resposta imune humoral eficaz a longo prazo (IZMIRLY *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022).

De acordo com Martinez, Metz e Baric (2021), ensaios de fase I realizados com crianças no México e nas Filipinas demonstraram que mais de 90% dos vacinados desenvolveram soroconversão para os quatro sorotipos após receberem as três doses. Os estudos de fase II controlados por placebo na América Latina, confirmaram essa alta taxa de soroconversão, com níveis de anticorpos neutralizantes de dez a vinte vezes maiores que os níveis iniciais. As crianças que já eram soropositivas para DENV antes da vacinação, apresentaram maior concentração de anticorpos neutralizantes em comparação com as soronegativas. Nos ensaios de fase III, a vacina apresentou uma eficácia de 56% contra infecções sintomáticas confirmadas (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021), sendo mais eficiente para os sorotipos DENV3 e DENV4 (PINHEIRO-MICHELSSEN *et al.*, 2020). De acordo com Hassan *et al.* (2021), a proteção da Dengvaxia foi moderada para indivíduos não infectados na América Latina (60,8%) e na Ásia (56,5%), com eficácia ainda menor contra o DENV-2 (42,3% e 35%, respectivamente). A proteção geral da Dengvaxia foi de 60,3% contra a dengue sintomática, variando por sorotipo, idade e estado sorológico basal (DURBIN, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020).

Embora a vacina seja segura, há preocupações quanto ao seu uso em indivíduos soronegativos, que apresentam maior risco de desenvolver formas graves de dengue (DURBIN, 2020; HARAPAN *et al.*, 2020). Segundo Hassan *et al.* (2021), após a aplicação da vacina CYD-TDV foram observadas instabilidades na replicação viral entre os quatro sorotipos, com uma dominância imunológica relacionada aos epítomos. Um estudo indicou que crianças soronegativas com idades entre 2 e 16 anos, vacinadas com a Dengvaxia apresentaram uma taxa de hospitalização maior do que aquelas que receberam placebo (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021). Devido à proteção parcial oferecida, principalmente contra o sorotipo DENV-2, a CYD-TDV é recomendada apenas para pessoas soropositivas, com idade entre 9 e 45 anos, e que residem em áreas

endêmicas (IZMIRLY *et al.*, 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN, 2020; HASSAN *et al.*, 2021). Vale ressaltar, que a Dengvaxia não consegue induzir uma resposta imune mediada por células T, pois não contém proteínas não estruturais do DENV. Apenas a imunidade humoral não fornece proteção completa e pode aumentar o risco de levar a formas graves da doença (MA; CHENG, 2022).

No ano de 2017, a vacina foi suspensa nas Filipinas após uma campanha de vacinação infantil, em razão do aumento de casos graves de dengue entre os vacinados. O Grupo Consultivo Estratégico de Peritos (SAGE), da OMS, indicou a realização de uma triagem antes da vacinação para identificar o status sorológico dos indivíduos, ou a administração da vacina apenas em populações com alta soroprevalência (acima de 80%) entre pessoas com nove anos ou mais (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020). Em 2019, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos, aprovou o uso da Dengvaxia para indivíduos soropositivos entre 9 e 16 anos em regiões afetadas pela dengue. Da mesma forma, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) recomendou seu uso apenas para pessoas com exposição prévia à dengue (HASSAN *et al.*, 2021).

Um estudo de coorte⁹ longitudinal, prospectivo e populacional foi realizado com residentes de Bogo e Balamban, em Cebu, Filipinas (YLADE *et al.*, 2024). Os participantes foram 285.242 crianças saudáveis, com idades entre 9 e 14 anos, das quais 149.023 (52,2%) receberam uma dose da vacina CYD-TDV entre 15 de junho e 16 de agosto de 2017. Cada criança vacinada recebeu um cartão de vacinação e uma lista mestre foi criada para registrar as vacinações. O programa de vacinação contra a dengue foi descontinuado no final de 2017, sem oferta de doses adicionais em Cebu (YLADE *et al.*, 2024). O acompanhamento foi realizado de 6 de novembro de 2017 a 31 de outubro de 2022, a fim de avaliar o risco do desenvolvimento de dengue confirmada virologicamente entre as crianças em Cebu, que receberam ou não uma dose única de CYD-TDV, considerando o número de infecções anteriores

⁹ Um estudo de coorte longitudinal, prospectivo e populacional acompanha um grupo de indivíduos ao longo do tempo para analisar a relação entre fatores de risco e resultados na saúde. Ele é longitudinal porque coleta dados ao longo do tempo, prospectivo para observar os participantes do momento presente para o futuro, e populacional porque a amostra representa uma população maior (CERCOMP, 2006).

por DENV (nenhuma, uma ou duas ou mais) no início do estudo. O desfecho secundário foi analisar a resposta imunológica aos quatro sorotipos do DENV em participantes vacinados e não vacinados, de acordo com o estado sorológico inicial (YLADE *et al.*, 2024).

Uma dose única de CYD-TDV não resultou em proteção contra a dengue confirmada virologicamente em crianças sem infecção prévia por DENV ou com apenas uma infecção no início do estudo. No entanto, proporcionou proteção significativa contra hospitalizações por dengue em participantes com duas ou mais infecções anteriores por DENV, durante os primeiros três anos do estudo (YLADE *et al.*, 2024). Como foi aplicada apenas uma dose, o estudo não serve como base para decisões de vacinação por autoridades de saúde pública, mas tem implicações para crianças que recebem um regime de vacinação incompleto. Os resultados indicam que o risco de dengue está relacionado ao histórico de infecções prévias, ressaltando a importância de que em futuros ensaios de vacinas contra dengue, avaliem o número de infecções anteriores por DENV dos indivíduos, em vez de identificá-los apenas como soropositivos ou soronegativos, a fim de compreender de forma aprofundada o impacto da vacinação (YLADE *et al.*, 2024).

3.3.1.2 TAK-003 (DENVax, Qdenga)

Produzida pela Takeda Vaccines Inc., da companhia farmacêutica Takeda, a TAK-003 (anteriormente chamada DENVax, comercialmente Qdenga) é uma vacina quimérica tetravalente, composta por uma cepa PDK-53 atenuada de DENV2 como espinha dorsal e três vírus quiméricos que expressam os genes prM e E de DENV1, DENV3 e DENV4 (IZMIRLY *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; MA; CHENG, 2022; TRICOU *et al.*, 2022; PATEL *et al.*, 2023). A TAK-003 foi licenciada para a prevenção da dengue em vários países, incluindo membros da União Europeia, Reino Unido, Brasil, Argentina, Tailândia e Indonésia (PATEL *et al.*, 2023; TRICOU *et al.*, 2024), no entanto, garantir

o acesso global à vacina ainda é um desafio, especialmente em países de baixa renda onde a dengue é mais prevalente (TRICOU *et al.*, 2024). Hassan *et al.* (2021), afirmam que a presença das proteínas NS na TAK-003 é fundamental para estimular a produção de anticorpos e ativar respostas imunes celulares. Em estudos pré-clínicos, foi observado que células T específicas para o vírus da dengue estão ligadas à imunidade produzida pela vacina (TRICOU *et al.*, 2022). Em modelos murinos, foi observado que filhotes de fêmeas vacinadas com TAK-003 possuem anticorpos maternos, proporcionando uma possível proteção neonatal contra a dengue (HASSAN *et al.*, 2021).

Nos ensaios clínicos de fase I e II, a vacina demonstrou-se imunogênica e bem tolerada em adultos e crianças, inclusive em indivíduos soronegativos para a dengue (TRICOU *et al.*, 2022). Entre os participantes, 62% soroconverteram para os quatro sorotipos, enquanto 96% soroconverteram para pelo menos três sorotipos após duas doses. Segundo Wilken e Rimmelzwaan (2020), o maior índice de soroconversão foi observado para o DENV2 (>95%) e o menor para o DENV4 (87,5%). A segunda dose foi comprovada em 100% de soroconversão para o DENV-1 e em altas taxas para outros sorotipos.

Os ensaios clínicos incluíram um grande estudo com mais de 20.000 crianças em oito países, onde a vacina induziu respostas imunes contra todos os sorotipos do DENV. Os resultados mostraram que os anticorpos persistiram até 48 meses após a vacinação, com eficácia de longo prazo e proteção contra hospitalizações (MA; CHENG, 2022; TRICOU *et al.*, 2022), além de respostas imunes celulares (IZMIRLY *et al.*, 2020). A eficácia da vacina variou entre os sorotipos: DENV-2 (97,7%), DENV-1 (73,7%) e DENV-3 (62,6%), com dados inconclusivos para DENV-4 (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020). Ensaios clínicos de fase I, II e III demonstraram que a TAK-003 é bem tolerada e imunogênica tanto em adultos saudáveis sem exposição anterior ao DENV em áreas não endêmicas, quanto em adultos e crianças em regiões endêmicas da Ásia e América Latina (PATEL *et al.*, 2023). Apesar de sua eficácia robusta, segurança e seus benefícios para a saúde pública, alguns riscos e lacunas de informações para os sorotipos

DENV-3 e DENV-4, principalmente entre soronegativos, precisam ser considerados. Entretanto, em resposta às recomendações da OMS para evitar a vacina CYD-TDV em indivíduos sem infecção prévia, a Qdenga mostra ser uma alternativa mais segura (TRICOU *et al.*, 2024).

Em um ensaio clínico de fase II realizado no Panamá, uma região endêmica para a dengue, foram avaliadas as respostas celulares após a vacinação com o TAK-003 em 67 participantes adolescentes, em um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo (TRICOU *et al.*, 2022). A vacina induziu respostas amplas das células T CD4+ e CD8+ que produziram citocinas como IFN- γ , TNF- α e IL-2, e demonstraram reatividade cruzada contra os sorotipos DENV-1, DENV-3 e DENV-4, independentemente da exposição anterior à dengue (TRICOU *et al.*, 2022). Observou-se que as células T CD8+ responderam com maior intensidade do que as T CD4+. As proteínas não estruturais NS1, NS3 e NS5 foram os principais alvos das células T CD4+, enquanto as proteínas NS3 e NS5 foram alvos dominantes das células T CD8+. A Qdenga provocou uma resposta das células T CD8+ semelhantes à gerada após uma infecção natural, com foco nas proteínas NS3 e NS5, e essa resposta manteve-se por pelo menos doze meses após a vacinação (TRICOU *et al.*, 2022). As respostas produzidas pelas células T foram observadas tanto em indivíduos soropositivos quanto nos soronegativos, fornecendo uma forte imunidade em um ambiente endêmico. Enquanto a vacina CYD-TDV levou principalmente a produção de IFN- γ , a TAK-003 estimulou células T com capacidade de secretar múltiplas citocinas, incluindo IFN- γ , TNF- α e IL-2, fornecendo uma resposta imune mais robusta (TRICOU *et al.*, 2022).

Um ensaio clínico de fase III foi conduzido em áreas não endêmicas nos EUA, com duzentos participantes adultos (dos quais 168 completaram o estudo), com o objetivo de medir a resposta de anticorpos neutralizantes induzida pela vacina Qdenga, aplicada durante a última metade de sua vida útil de dois anos (PATEL *et al.*, 2023). O foco principal do estudo foi avaliar a imunogenicidade e a segurança da TAK-003, aplicada em duas doses com um intervalo de três meses. A resposta imunológica provocada pela vacina permaneceu por até seis meses após a segunda

dose, envolvendo todos os quatro sorotipos do vírus da dengue, com os títulos mais elevados observados para o DENV-2. Houve uma redução de 43% a 52% nos títulos de anticorpos neutralizantes em seis meses, porém as respostas imunes mantiveram-se (PATEL *et al.*, 2023). No dia 120, a soroconversão foi verificada em mais de 97% dos participantes para todos os sorotipos. Os dados da fase III demonstraram uma eficácia geral de 80,2%, com uma proteção de 95,4% contra hospitalizações e 74,9% de eficácia em participantes soronegativos (PINHEIRO-MICHELSEN, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020).

Um outro estudo de fase III, duplo-cego, randomizado e controlado por placebo, foi realizado para avaliar a eficácia da vacina TAK-003 (TRICOU *et al.*, 2024). Os participantes foram jovens saudáveis de quatro a dezesseis anos, em 26 centros médicos e de pesquisa de oito países endêmicos para a dengue (Brasil, Colômbia, República Dominicana, Nicarágua, Panamá, Filipinas, Sri Lanka e Tailândia). A vacina foi administrada em duas doses, com um intervalo de três meses. O ensaio clínico contou com um total de 20.099 participantes, uma parte foi aleatoriamente alocada para o grupo TAK-003 (n=13.401) e a outra parte para o placebo (n=6.698) (TRICOU *et al.*, 2024). Cerca de quatro anos e meio após a segunda dose, a vacina demonstrou uma eficácia geral de 61,2% contra a dengue confirmada e 84,1% contra hospitalizações devido à doença. Nos participantes soropositivos, a vacina mostrou eficácia contra todos os quatro sorotipos, variando de 52,3% para o DENV-3 a 80,4% para o DENV-2 (TRICOU *et al.*, 2024). Entre os soronegativos a TAK-003 foi eficiente contra os sorotipos DENV-1 e DENV-2, com menor eficácia para o DENV-3 e dados limitados para o DENV-4 devido à incidência reduzida. Durante os 57 meses de acompanhamento, a ocorrência cumulativa de dengue foi maior no grupo placebo, confirmando a proteção significativa da vacina, independentemente do estado sorológico inicial (TRICOU *et al.*, 2024). A eficácia foi menor em crianças de quatro a cinco anos (42,3%) em comparação com faixas etárias mais velhas, (64,6%) em crianças de seis a onze anos e (68,9%) em adolescentes de doze a dezesseis anos. A proteção contra hospitalizações também foi reduzida para os mais jovens (TRICOU *et al.*, 2024). Nos países participantes da Ásia e América Latina, os sorotipos DENV-1 e DENV-2 foram os mais comuns,

enquanto DENV-3 e DENV-4 foram menos frequentes, aparecendo mais na Ásia. A Qdenga mostrou alta eficácia na prevenção de hospitalizações e proteção contra casos sintomáticos de dengue e não apresentou aumento no risco de gravidade da doença em soronegativos vacinados, representando um avanço importante na imunização contra a dengue (TRICOU *et al.*, 2024).

3.3.1.3 TV003

Desenvolvida pelo Instituto Nacional de Alergia e Doenças Infecciosas, divisão dos Institutos Nacionais de Saúde (NIAID/NIH) dos Estados Unidos, a TV003 é uma vacina tetravalente viva atenuada (DURBIN, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020), baseada em uma exclusão de 30 nucleotídeos na região não traduzida (3' UTR) do genoma viral das cepas DENV-1 (DEN1Δ30) e DENV-4 (DEN4Δ30), com três vírus de comprimento total e um quimérico (DURBIN, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; HASSAN *et al.*, 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021). A vacina utiliza componentes monovalentes para cada sorotipo do DENV e somente uma dose proporciona uma resposta imune equilibrada e robusta, incluindo respostas celulares, ao contrário das três doses necessárias para Dengvaxia (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; MA; CHENG, 2022).

De acordo com Wilken e Rimmelzwaan (2020), a TV003 induziu soroconversão para os quatro sorotipos em 74% dos participantes e ao menos três sorotipos em 92% em ensaios clínicos de fase I, porém a soroconversão para DENV2 foi um pouco menor (76%). Todos os vacinados ficaram completamente protegidos contra DENV2 em desafios¹⁰ controlados realizados seis meses após a vacinação (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021). Alguns efeitos leves, como erupções

¹⁰ Nos experimentos clínicos com desafio, os voluntários são intencionalmente infectados com o patógeno de interesse para acelerar o desenvolvimento de vacinas ou tratamentos, permitindo uma avaliação mais rápida (LEDO, 2020).

cutâneas, elevação de ALT¹¹ e leucopenia¹², foram relatados em 7 a 40% dos casos com doses mais altas (10^5 pfu) do componente da vacina DENV4 Δ 30 (HASSAN *et al.*, 2021). Uma versão está sendo desenvolvida em conjunto com o Instituto Butantan, a Butantan-DV, que induziu respostas equilibradas após uma única dose em ensaios clínicos, com altas taxas de soroconversão tanto em indivíduos previamente expostos quanto em não expostos ao DENV (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021). Um ensaio de fase III está em andamento, e os resultados são esperados para 2025 (WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020).

A segurança, infectividade e imunogenicidade das vacinas TV003 e TV005 foram avaliadas em um estudo duplo-cego controlado por placebo com adultos saudáveis sem exposição prévia a flavivírus (DURBIN, 2020). TV005 é idêntica à TV003, mas com uma dose maior (10^4 pfu) para o DENV2. Ambas as vacinas foram bem toleradas e mostraram respostas imunológicas robustas (IZMIRLY *et al.*, 2020), apresentando como principal efeito adverso uma leve erupção cutânea. Os quatro componentes de cada vacina mostraram equilíbrio entre os sorotipos, especialmente DENV-1, DENV-3 e DENV-4. A infectividade para o DENV-2 foi aprimorada na TV005, com 86% dos vacinados soroconvertendo para DENV-2, em comparação com 64% entre os que receberam a TV003 (DURBIN, 2020). O vírus subatenuado rDEN2 Δ 30 utilizado para o desafio infectou todos os participantes do grupo placebo, mas nenhum dos vacinados com TV003. Esse estudo mostrou que a TV003 e TV005 induzem uma proteção elevada contra o DENV, com alguns indivíduos alcançando uma resposta imune esterilizante (DURBIN, 2020).

Um ensaio clínico de fase I parcialmente cego está em andamento, buscando avaliar como o estado imunológico de indivíduos em relação ao DENV (soronegativos, monotípicos não-DENV3 ou politépicos) influencia a segurança e a eficácia da vacina viva atenuada monovalente DENV3 rDEN3 Δ 30/ 31-7164 (ODIO *et al.*, 2023). O rDEN3 Δ 30/31-7164 monovalente é um dos quatro componentes da

¹¹ O exame da enzima alanina aminotransferase, também denominado ALT ou TGP, é um teste sanguíneo que auxilia na detecção de lesões e doenças hepáticas (LEMOS, 2024).

¹² A leucopenia é caracterizada pela diminuição do número de leucócitos no sangue, com valores abaixo de 4.000 células por microlitros (DALE, 2023).

vacina tetravalente candidata contra a dengue, a TV003, desenvolvida pelo NIAID/NIH. Serão selecionados 45 adultos saudáveis de regiões não endêmicas, divididos em três grupos de estudo com 15 pessoas em cada: soronegativo para flavivírus, monotípico heterotípico (infectados com um sorotipo diferente do DENV3) e politípico (ODIO *et al.*, 2023). Como os objetivos principais do ensaio serão avaliar a segurança e a imunogenicidade, os participantes não serão randomizados, sendo agrupados conforme a imunidade prévia. Contudo, todos os membros da equipe, com exceção do estatístico e de um biólogo computacional, permanecerão cegos em relação à atribuição específica de cada indivíduo (ODIO *et al.*, 2023).

O estudo busca investigar como diferentes perfis de imunidade contra o DENV influenciam as respostas virais e imunológicas, incluindo as respostas inatas, celulares e humorais. Durante o ensaio, os pesquisadores irão analisar eventos adversos, reatogenicidade, imunogenicidade e o pico médio de viremia. Além disso, a pesquisa pretende identificar novos biomarcadores que possam estar relacionados tanto à replicação viral quanto ao estímulo de uma resposta imune ampla, gerada pela exposição sequencial ao DENV (ODIO *et al.*, 2023). A hipótese principal do estudo é que uma vacina focada no DENV3 será segura e bem tolerada, com todos os grupos apresentando um aumento significativo de anticorpos neutralizantes contra os quatro sorotipos do vírus entre os dias 0 e 28. Espera-se que o ensaio clínico seja concluído até o dia primeiro de janeiro de 2025. A expectativa é que o grupo politípico apresente um pico de viremia menor devido à imunidade preexistente, enquanto o grupo monotípico heterotípico tenha uma viremia média superior (ODIO *et al.*, 2023). O trabalho busca superar limitações da vacina TAK-003, que demonstrou sucesso contra o DENV1 e DENV2, porém apresentou limitações para proteção contra casos sintomáticos e hospitalizações causadas pelo DENV3 em indivíduos soronegativos, supostamente devido à replicação insuficiente do componente DENV3 (ODIO *et al.*, 2023).

As vacinas Dengvaxia, TAK-003 e TV003 são atenuadas e tetravalentes, desenvolvidas para induzir uma imunidade contra os quatro sorotipos do vírus da dengue. Entretanto, sua eficácia varia de acordo com o sorotipo, e a soroconversão

não garante proteção completa (ODIO *et al.*, 2023). A Dengvaxia é mais eficaz contra o DENV4, enquanto a TAK-003 apresenta maior eficácia contra o DENV2. As diferenças genéticas entre os diferentes sorotipos podem modificar os epítomos das proteínas prM e E, o que influencia a capacidade de neutralização dos anticorpos. Essas variações genéticas impactam principalmente os vacinados com menos de nove anos (MA; CHENG, 2022).

A vacina TV003 provoca respostas celulares mais amplas e eficazes com apenas uma dose. Já a TAK-003, requer menos doses em comparação à Dengvaxia e é eficaz em crianças com menos de nove anos, garantindo proteção tanto em indivíduos soropositivos quanto em soronegativos (MA; CHENG, 2022). A principal diferença entre a Dengvaxia e as vacinas TV003/TV005 e TAK-003 é a ausência das proteínas não estruturais na Dengvaxia. De acordo com Prompetchara *et al.* (2020), as vacinas TV003 e TAK-003 incluem proteínas NS, que são essenciais para estimular a imunogenicidade e a resposta das células T, fundamentais para uma proteção eficiente contra a dengue.

3.3.1.4 TDEN

O Instituto de Pesquisa do Exército Walter Reed (WRAIR), em parceria com a companhia farmacêutica GlaxoSmithKline (GSK), desenvolveu uma vacina tetravalente viva atenuada contra a dengue (TDEN), utilizando vírus provenientes de infecções naturais que foram enfraquecidos por meio de passagens seriadas em células PDK¹³ (PINHEIRO-MICHELSSEN *et al.*, 2020). As cepas dos quatro sorotipos da dengue foram atenuadas com diferentes números de passagens. Segundo Pinheiro-Michelsen *et al.* (2020), em estudos pré-clínicos, as vacinas nas versões monovalente e tetravalente mostraram-se seguras em macacos-rhesus (*Macaca*

¹³ Cultura de células que criam ambiente controlado para o crescimento do vírus, facilitando sua manipulação e estudo. Esse método é utilizado no desenvolvimento de vacinas inativadas, pois possibilita que o vírus seja reconhecido pelo sistema imunológico sem causar a doença (COLLEGE OF PHYSICIANS OF PHILADELPHIA, 2018).

mulatta). A vacina foi fabricada em duas versões, F17 e F19, sendo a F17 mais eficaz para todos os sorotipos. Após duas doses, a vacina induziu imunogenicidade, contudo os níveis de anticorpos neutralizantes não foram medidos (IZMIRLY *et al.*, 2020). Pesquisas com bebês e crianças tailandesas indicaram que a vacina é segura e imunogênica, levando a taxas significativas de soroconversão para pelo menos três dos sorotipos de DENV após a segunda dose. Um estudo registrado no ClinicalTrials.gov¹⁴ está acompanhando voluntários por cinco anos, com o objetivo de avaliar a segurança e imunogenicidade de uma terceira dose, aplicada um ano após a segunda, para ajustar o cronograma vacinal (PINHEIRO-MICHELSSEN *et al.*, 2020).

3.3.2 Vacina inativada

Essas vacinas são mais seguras, pois não têm capacidade de se converter em formas infecciosas. Além disso, as vacinas multivalentes de vírus inativado provocam uma resposta de anticorpos equilibrada e robusta para cada sorotipo, apresentam baixo risco de efeitos adversos e são adequadas para pessoas imunocomprometidas (HASSAN *et al.*, 2021). Contudo, por conterem apenas proteínas estruturais do DENV, não oferecem imunidade contra proteínas não estruturais. Para indivíduos que não foram expostos anteriormente ao vírus são necessários adjuvantes¹⁵, a fim de alcançar uma resposta imunológica ideal, o que aumenta os custos e pode elevar a reatogenicidade. Ademais, para manter uma imunidade é preciso várias doses de reforço, gerando alto custo de produção devido a dificuldade em se obter títulos virais significativos de DENV em culturas celulares (KHAN *et al.*, 2023).

¹⁴ O ClinicalTrials.gov é uma plataforma online que atua como um banco de dados de estudos de pesquisa clínica e seus resultados (<https://clinicaltrials.gov/>).

¹⁵ Os adjuvantes são compostos adicionados às vacinas para melhorar a eficácia, aumentando a resposta imune do organismo ao antígeno (MUNIZ, 2023).

Nenhuma vacina eficaz contra o DENV foi desenvolvida com esse método até ao momento (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021). Um exemplo é uma vacina contra o DENV2, inativada com formalina, que não conseguiu gerar níveis duradouros de anticorpos protetores em macacos-rhesus. A estratégia de combinação entre vacinas inativadas para imunizações primárias e vacinas vivas atenuadas para reforço (vacinação heteróloga), provocou respostas humorais protetoras contra os quatro sorotipos. Embora partículas virais inativadas isoladamente não tenham sido promissoras como alternativas às vacinas candidatas existentes, estratégias inovadoras que utilizam nanopartículas e adjuvantes podem renovar o interesse por essa abordagem (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021).

A TDENV PIV é uma vacina tetravalente purificada e inativada com formalina, composta de vírus inativado dos quatro sorotipos, desenvolvida pelo Instituto de Pesquisa do Exército Walter Reed em parceria com a GlaxoSmithKline. Seu desenvolvimento teve início em 1995 e enfrentou dificuldades iniciais relacionados à disseminação do vírus e à variação antigênica após a inativação. No entanto, esta vacina demonstrou-se segura e imunogênica em macacos-rhesus, produzindo concentrações importantes de anticorpos neutralizantes após duas doses, assim como, proporcionou proteção completa contra o DENV3, além de reduzir a viremia após a exposição aos quatro sorotipos (PINHEIRO-MICHELTEN *et al.*, 2020).

Em um ensaio clínico de fase I com vinte participantes conduzido pelo WRAIR, uma administração de duas doses da vacina PIV-1, uma versão monovalente contra DENV-1, induziu uma resposta detectável de células T CD4+ em muitos indivíduos (FRIBERG *et al.*, 2020). Foi observada a produção de IFN- γ , relacionada a resultados clínicos positivos para dengue. Também foi verificada a secreção de outras citocinas como a IL-2, IL-5 e GM-CSF por células T CD4+, auxiliando na produção de anticorpos mas sem induzir respostas significativas de células T CD8+. Esse resultado condiz com a natureza inativada do antígeno da vacina (FRIBERG *et al.*, 2020). Observou-se uma correlação positiva entre as taxas de anticorpos e de células T CD4+ precursoras, conforme os estudos de outras

vacinas, como a vacina contra gripe, que também apresentou essa relação (FRIBERG *et al.*, 2020). A ausência de respostas de células T CD8+ causadas pela vacina PIV-1 é preocupante, visto que, essas células são importantes na proteção contra infecção, como demonstrado em modelos de camundongos e em humanos. Friberg *et al.* (2020), afirmam que isso leva a questionamentos sobre a capacidade de vacinas como a PIV-1 e Dengvaxia, que não promovem respostas significativas de células T CD8+, proporcionarem uma imunidade totalmente protetora.

Nos ensaios em voluntários a vacina TDENV PIV demonstrou ser imunogênica e segura, de acordo com testes de neutralização e ELISA¹⁶ (HASSAN *et al.*, 2021). Foram adicionados adjuvantes, como AS01E e AS03B, para auxiliar na imunogenicidade (PINHEIRO-MICHELTSEN, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020). Embora seja moderadamente imunogênica, a vacina mostrou uma diminuição de anticorpos neutralizantes ao longo do tempo (IZMIRLY *et al.*, 2020; PINHEIRO-MICHELTSEN, 2020). Ainda é necessário avaliar como a resposta imunológica varia conforme o sorotipo e investigar a relação entre a ativação das células T CD4+ e a produção de anticorpos, especialmente em formulações tetravalentes da vacina PIV (FRIBERG *et al.*, 2020).

3.3.3 Vacinação heteróloga

A vacinação sequencial com diferentes sorotipos pode gerar anticorpos neutralizantes e uma resposta imunológica mais intensa. Segundo Odio *et al.* (2023), estudos pré-clínicos indicam que a vacinação monovalente sequencial pode provocar respostas mais fortes do que a vacinação tetravalente. A vacinação prime-boost heteróloga, que combina diferentes formulações de vacina para doses primárias e de reforço, pode ser vantajosa em relação à imunização tradicional. Essa abordagem permite compensar as limitações de cada plataforma de vacina,

¹⁶ O ensaio imunoenzimático é usado para identificar a presença de uma molécula-alvo, geralmente uma proteína, em uma amostra líquida, utilizando anticorpos específicos fixados em um meio sólido (LEMOS, 2024).

intensificando a resposta imunológica humoral e celular. Entretanto, esse método eleva os custos das vacinas e a necessidade logística, o que pode dificultar sua aplicação em larga escala (PROMPETCHARA *et al.*, 2020).

Em um ensaio clínico randomizado de fase I, com 80 participantes, foi avaliado um regime de vacinação prime-boost heteróloga para dengue. Foi utilizada uma vacina tetravalente purificada e inativada com formalina (TDENV-PIV) com adjuvante de alumínio, seguida de uma vacina tetravalente viva atenuada (TDENV-LAV), ambas produzidas pelo Instituto de Pesquisa do Exército Walter Reed, a vacinação também foi feita na ordem inversa (LIN *et al.*, 2020). Foram testadas diferentes ordens e esquemas de dosagem (intervalo de 28 ou 180 dias). A dor no local da injeção foi um evento adverso (EA) mais comum após a aplicação da vacina PIV em comparação com a LAV, mas nenhum evento adverso grave foi demonstrado. Fadiga e cefaléia foram os EAs sistêmicos mais retratados, ocorrendo com maior frequência depois da administração de LAV. Alguns receptores apresentaram febre após a LAV e erupções ocorreram nos dois grupos (LIN *et al.*, 2020). O regime de PIV seguido por LAV obteve 100% de soroconversão tetravalente 28 dias após a vacinação, taxa maior do que na ordem inversa (LAV seguida por PIV). A estratégia heteróloga também gerou concentrações de anticorpos neutralizantes mais altos do que os obtidos com duas doses de PIV ou de LAV. A resposta humoral foi intensificada quando o intervalo entre as doses foi aumentado para seis meses (LIN *et al.*, 2020).

As respostas imunológicas mediadas por IFN- γ entre os grupos foram semelhantes mas com algumas variações, sendo que o DENV-2 induziu as respostas mais elevadas de IFN- γ em todos os grupos. O regime heterólogo apresentou um perfil de segurança aceitável. O estudo apoia a continuidade de análise da estratégia de vacinação heteróloga contra a dengue, especialmente pela imunogenicidade humoral superior obtida com a aplicação da vacina inativada seguida do reforço com a vacina atenuada (LIN *et al.*, 2020).

3.3.4 Vacina de subunidade

As dificuldades com as vacinas de vírus vivos atenuados, como manter a replicação equilibrada, ressaltam a importância de se testar plataformas de vacinas multicomponentes não replicantes. A tendência é se afastar do uso do vírus completo para explorar o desenvolvimento de vacinas de subunidade. As vacinas de subunidade recombinante incluem proteínas antigênicas produzidas em células procarióticas ou eucarióticas, que proporcionam respostas imunes duradouras (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021).

As vacinas de subunidade não apresentam os riscos biológicos das vacinas vivas atenuadas ou inativadas, sendo mais seguras, econômicas e fáceis de produzir (HASSAN *et al.*, 2021). Além disso, promovem respostas imunológicas equilibradas contra os quatro sorotipos do DENV, reduzindo o risco de ADE (KHAN *et al.*, 2023). Apesar da fabricação de proteínas recombinantes do vírus da dengue em *Escherichia coli* ser relativamente simples, surgem obstáculos como, contaminação por endotoxinas, problemas de dobramento inadequado e glicosilação das proteínas (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; KHAN *et al.*, 2023). De acordo com Khan *et al.* (2023), as alternativas são o uso de bactérias como *Neisseria meningitidis* ou sistemas com baculovírus¹⁷ para produção dessas vacinas. Entretanto, a falta de replicação no organismo pode limitar a duração da resposta imune, possivelmente exigindo doses de reforço.

Pesquisas estão em andamento para vacinas de subunidade baseadas no EDIII¹⁸, uma vez que possui um papel fundamental na entrada viral nas células hospedeiras e na geração de anticorpos específicos para cada sorotipo (HASSAN *et al.*, 2021). No entanto, as taxas de anticorpos tendem a diminuir rapidamente após a vacinação. O antígeno de subunidade preferido é a proteína E inteira, que é

¹⁷ Os baculovírus são vírus que infectam insetos e têm se mostrado muito úteis na biotecnologia, devido à sua capacidade de produzir proteínas recombinantes de forma eficiente e segura (CHAVES, 2016).

¹⁸ O domínio III da proteína E do vírus da dengue é essencial para a adesão viral às células do hospedeiro, pois interage diretamente com os receptores celulares. Possui uma estrutura semelhante à das imunoglobulinas e é altamente imunogênico (OLIVEIRA, 2011).

imunogênica, porém também apresenta uma queda rápida de anticorpos neutralizantes (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021).

A vacina recombinante baseada na glicoproteína E do vírus da dengue (DEN-80) foi inicialmente desenvolvida pela empresa de biotecnologia Hawaii Biotech e utiliza os ectodomínios da proteína E de cada sorotipo DENV, representando 80% da proteína total. Atualmente, seu desenvolvimento é realizado pela empresa farmacêutica Merck, com o adjuvante ISCOMATRIX¹⁹ (IZMIRLY *et al.*, 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020). Estudos pré-clínicos mostraram que a vacina induz uma forte resposta de anticorpos neutralizantes em camundongos e primatas (IZMIRLY *et al.*, 2020; HASSAN *et al.*, 2021). A resposta imune foi do tipo Th1²⁰ e células de memória foram detectadas seis meses após a última dose (PINHEIRO-MICHELSSEN *et al.*, 2020).

A formulação tetravalente V180 foi produzida a partir de sequências virais amplificadas via RT-PCR²¹ que codificam as proteínas prM e E truncadas, expressas em células Schneider-2 (derivadas de *Drosophila melanogaster*), posteriormente purificadas. Essa vacina induziu altos níveis de anticorpos neutralizantes em uma aplicação de três doses (nos dias 0, 30 e 180). Ensaios clínicos mostraram que 85,7% dos voluntários soroconverteram, demonstrando eficácia moderada na produção de anticorpos neutralizantes. A imunogenicidade da V180 depende do adjuvante ISCOMATRIX e é necessária a conclusão dos ensaios clínicos para confirmar sua segurança e eficácia em humanos (PINHEIRO-MICHELSSEN *et al.*, 2020).

¹⁹ O ISCOMATRIX é um adjuvante que aumenta a entrega do antígeno e estimula uma resposta imunológica robusta, incluindo a produção de anticorpos e a ativação de células T, por este motivo é utilizado em vacinas experimentais (MORELLI *et al.*, 2012).

²⁰ Subtipo de células T auxiliares (CD4+) que possuem um papel fundamental na resposta imune celular, especialmente contra vírus e certas bactérias, estimulando a ativação de macrófagos e células T citotóxicas. Além disso, as Th1 secretam as citocinas IFN- γ e IL-2, que acentuam a resposta inflamatória e auxiliam na defesa do organismo contra infecções (DELVES, 2024).

²¹ O exame RT-PCR (transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase) é um método laboratorial utilizado para detectar a presença de material genético ou identificar mutações genéticas. Permite detectar até mesmo pequenas quantidades de material genético na amostra, o que torna o RT-PCR altamente sensível e confiável para identificar infecções em estágios iniciais (LEMOS, 2024).

3.3.5 Vacina de DNA e mRNA

As vacinas de DNA para dengue oferecem muitas vantagens, como a alta estabilidade, baixo custo e viabilidade para produção em larga escala. Elas são capazes de provocar respostas imunológicas moderadas, não se replicam, não são infecciosas e podem ser adaptadas para alvos específicos entre os sorotipos do vírus da dengue (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; HASSAN *et al.*, 2021; KHAN *et al.*, 2023). Essas vacinas utilizam plasmídeos contendo genes virais específicos para induzir uma resposta imunológica (MA; CHENG, 2022). A produção dessas vacinas foi impulsionado pela pandemia de COVID-19, levando a sua produção para outras doenças, como a dengue (MA; CHENG, 2022). Contudo, o desenvolvimento dessas vacinas evoluiu mais lentamente em comparação com outras abordagens, devido à sua baixa imunogenicidade (PROMPETCHARA *et al.*, 2020; MA; CHENG, 2022). Pesquisas recentes têm procurado evitar essa limitação direcionando os antígenos para células dendríticas, que são as principais células apresentadoras de antígenos, utilizando uma fusão entre antígenos e anticorpos específicos (MA; CHENG, 2022). De acordo com Khan *et al.* (2023), as principais dificuldades encontradas em estudos com vacinas de DNA, são a necessidade de várias doses, de adição adjuvantes e de equipamentos específicos para a aplicação.

A D1ME100 é uma vacina monovalente de DNA contra a dengue desenvolvida pelo Comando de Pesquisa Médica Naval (NMRC), dos EUA. Baseada nos genes que expressam as proteínas de pré-membrana (prM) e envelope (E) do DENV-1, sob o controle do promotor do citomegalovírus do vetor de plasmídeo VR1012 (IZMIRLY *et al.*, 2020), e está sendo testada em ensaios clínicos de fase I (PINHEIRO-MICHELTSEN *et al.*, 2020). A vacina foi alterada com a substituição das sequências transmembranas e citoplasmáticas do DENV2 para aprimorar a resposta imunológica de longo prazo. Essa modificação, chamada 1040D2ME-LAMP, visa orientar a resposta ao receptor MHC classe II, induzindo a produção de anticorpos

neutralizantes duradouros (PINHEIRO-MICHELSEN *et al.*, 2020). Embora a vacina em estudo tenha mostrado capacidade de induzir respostas celulares, apenas uma parte dos participantes apresentou níveis detectáveis de anticorpos neutralizantes (HARAPAN *et al.*, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020; HASSAN *et al.*, 2021).

Segundo Pinheiro-Michelsen *et al.*, (2020), a TVDV, versão tetravalente da vacina, foi inicialmente criada com três construções genéticas, das quais duas (sA e sC) demonstraram eficácia na produção de anticorpos contra os quatro sorotipos do DENV em macacos-rhesus. O adjuvante Vaxfectin aumentou de forma significativa as respostas de anticorpos neutralizantes para DENV1, DENV2 e DENV3 (PINHEIRO-MICHELSEN, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020). A aplicação da TVDV com Vaxfectin também reduziu a duração da viremia em animais. Em um ensaio clínico de fase I com 40 voluntários, a vacina TVDV com Vaxfectin se mostrou segura, bem tolerada e induziu respostas de células T (verificada pela secreção de IFN- γ). Além disso, uma vacina de DNA pode ser combinada com outras plataformas vacinais em uma estratégia de vacinação heteróloga, para melhorar a imunogenicidade e a eficácia (PROMPETCHARA *et al.*, 2020).

De acordo com Martinez, Metz e Baric (2021), as vacinas de mRNA utilizam essa molécula para codificar proteínas virais, priorizando a eficácia em vez da estabilidade, sendo uma tecnologia promissora que já foi aplicada a outros flavivírus, como o Zika Vírus (ZIKV). Uma vacina de mRNA contra o DENV1 em estudo, foi desenvolvida e encapsulada em nanopartículas lipídicas (mRNA-LNP), que protegem o mRNA contra enzimas do hospedeiro. Essa formulação gera respostas imunológicas fortes, com baixa reatividade cruzada e risco reduzido de amplificação dependente de anticorpos (MA; CHENG, 2022).

3.3.6 Vacina de Vetor Viral

Essas vacinas são eficientes em estimular a imunidade celular e humoral. No entanto, o principal desafio é a exposição prévia do indivíduo ao vetor viral, fazendo com o que sistema imunológico ataque o vetor ao invés do vírus-alvo, afetando a eficácia (KHAN *et al.*, 2023). Diversos vetores virais, como vaccinia, adenovírus e alfavírus, foram explorados para administrar antígenos DENV. Cepas iniciais de vaccinia apresentaram problemas de segurança e níveis baixos de IgG específicos para o vírus da dengue (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021).

Os vetores de vaccinia Ankara (MVA) são mais seguros e tiveram um bom desempenho em modelos murinos, porém, provocaram respostas limitadas de anticorpos em primatas não humanos. A imunogenicidade do MVA pode ser melhorada com variantes estáveis do dímero E (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021). Um adenovírus-26 com capacidade de replicação defeituosa expressou antígenos do DENV2, o que resultou na ativação da imunidade mediada por células T e na produção de anticorpos em camundongos e macacos-rhesus. Versões tetravalentes com vetores adenovirais bivalentes também produzem níveis protetores para os quatro sorotipos do DENV (HASSAN *et al.*, 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021).

Vetores de replicons do vírus da encefalite equina venezuelana (VRP) obtiveram resultados promissores expressando antígenos E dos quatro sorotipos DENV, levando a uma proteção tetravalente equilibrada (HASSAN *et al.*, 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021). Contudo, vale destacar que, apesar da eficácia para estimular a imunidade celular, as vacinas baseadas em vetores virais podem ser inferiores à outras abordagens para induzir respostas humorais (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021).

3.3.7 Vacina de peptídeo sintético (PepGNP-Dengue)

Um ensaio clínico randomizado, de fase I, duplo-cego e controlado por veículo²², realizado na Suíça, avaliou a segurança e imunogenicidade de uma vacina contra o DENV, desenvolvida para gerar respostas de células T CD8+ citotóxicas, sem induzir imunidade humoral. A vacina inovadora, chamada PepGNP-Dengue, produzida pela empresa de biotecnologia Emergex Vaccines, utiliza um peptídeo sintético multivalente contra a dengue, incorporado em nanopartículas de ouro (GNP), e foi administrada em duas doses com intervalo de 21 dias (MIAUTON *et al.*, 2023). Participaram do estudo, 26 adultos saudáveis entre 18 e 45 anos, indicados aleatoriamente para receber PepGNP-Dengue ou controle (GNP sem peptídeos, ou veículo-GNP), divididos em quatro grupos: dose baixa (LD) e dose alta (HD) de cada preparação (MIAUTON *et al.*, 2023). O desfecho primário do trabalho foi a segurança, e o secundário, a imunogenicidade.

Conforme Miauton *et al.* (2023), os resultados demonstraram que uma vacina peptídica sintética baseada em nanopartículas pode ser segura e realmente induzir respostas de células T CD8+ específicas contra o vírus, incentivando o avanço do desenvolvimento do PepGNP-Dengue. Os autores também observaram que as vacinações foram bem toleradas, e a maioria (90%) dos eventos adversos relatados foram leves, ocorrendo principalmente após a primeira dose. Alterações locais (eritema e inchaço) foram frequentes, indicando que as nanopartículas contribuíram para essas reações. Eventos adversos moderados foram mais comuns no grupo HD que no LD, mas com frequência semelhante entre os grupos PepGNP-Dengue e veículo-GNP (MIAUTON *et al.*, 2023).

O PepGNP-Dengue, como esperado pelos pesquisadores, não induziu resposta humoral significativa contra os quatro sorotipos de DENV, mas estimulou imunidade celular específica, especialmente no grupo de baixa dose (MIAUTON *et al.*, 2023). O grupo LD também apresentou menos eventos adversos sistêmicos em

²² Substância inerte usada para administrar o tratamento experimental.

comparação com o grupo HD, sugerindo que doses menores podem ser mais eficazes e bem toleradas. A persistência de antígenos no local da injeção com doses maiores pode causar a retenção de células T CD8+, reduzindo a eficácia (MIAUTON *et al.*, 2023).

A aplicação intradérmica da vacina tem como objetivo simular uma infecção natural pela picada do mosquito, atingindo células apresentadoras de antígenos (APCs) na pele e estimulando uma resposta protetora de células CD8+ no local. Estudos em modelos murinos e em humanos sugerem que as células T CD8+ são fundamentais para proteger contra infecções heterotípicas por DENV, auxiliando na redução do risco de ADE (MIAUTON *et al.*, 2023).

4 DISCUSSÃO

O desenvolvimento das vacinas contra a dengue é uma área de intensa pesquisa e apresenta avanços e desafios. As vacinas vivas atenuadas, como a CYD-TDV (Dengvaxia) e a TAK-003 (Qdenga), mostraram-se eficazes e seguras em ensaios clínicos. Entretanto, a complexidade da resposta imunológica ao vírus da dengue, aliada ao fenômeno de amplificação dependente de anticorpos, exige uma abordagem cuidadosa para evitar formas graves da doença em indivíduos soronegativos, como ocorrido após vacinações com Dengvaxia (DURBIN, 2020; HARAPAN *et al.*, 2020; WILKEN; RIMMELZWAAN, 2020; IZMIRLY *et al.*, 2020; HASSAN *et al.*, 2021; MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; MA; CHENG, 2022).

As vacinas inativadas, como a TDENV PIV, são seguras e imunogênicas, especialmente para indivíduos imunocomprometidos, mas apresentam dificuldades na indução de uma resposta imune robusta contra proteínas não estruturais do DENV, necessitando de adjuvantes para aumentar sua eficácia (PINHEIRO-MICHELSSEN, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020; HASSAN *et al.*, 2021; KHAN *et al.*, 2023). Já as vacinas de vetor viral, embora capazes de induzir respostas imunológicas, tanto humorais quanto celulares, enfrentam desafios

relacionados à imunidade pré-existente ao vetor, que podem comprometer sua eficiência (KHAN *et al.*, 2023).

As vacinas de subunidade e DNA/mRNA têm se mostrado promissoras, principalmente por possuírem menos riscos biológicos e serem adaptáveis a diferentes sorotipos. Porém, elas enfrentam limitações significativas em relação à imunogenicidade e à estabilidade antigênica (MARTINEZ; METZ; BARIC, 2021; HASSAN *et al.*, 2021; MA; CHENG, 2022; KHAN *et al.*, 2023). A vacina DEN-80, por exemplo, foi capaz de induzir fortes respostas imunológicas em animais, mas sua dependência de adjuvantes, como o ISCOMATRIX, indica a necessidade de aprimorar esses métodos para garantir respostas duradouras em humanos (IZMIRLY *et al.*, 2020; PINHEIRO-MICHELSSEN, 2020; PROMPETCHARA *et al.*, 2020).

Os principais desafios no desenvolvimento de vacinas contra a dengue são alcançar a proteção contra os quatro sorotipos e a redução do risco de ADE. As vacinas vivas atenuadas precisam balancear a replicação viral e a imunogenicidade, já as vacinas de subunidade e inativadas necessitam de adjuvantes e apresentam custos mais altos de produção. Ainda, as vacinas de DNA e mRNA têm mostrado dificuldades em induzir uma resposta imunológica suficientemente forte sem várias doses de reforço, o que limita sua aplicação em larga escala (KHAN *et al.*, 2023).

Considerando o cenário atual, estratégias de vacinação prime-boost heteróloga surgem como uma boa alternativa para aumentar a imunogenicidade e a durabilidade da proteção contra o DENV. Ensaio com métodos de combinação entre vacinas inativadas e vivas atenuadas, por exemplo, demonstram que essa abordagem pode levar a uma soroconversão eficaz. Contudo, ainda são necessários estudos adicionais para confirmar sua eficácia e segurança em diferentes populações (Lin *et al.*, 2020). Além disso, novas tecnologias, como o uso de nanopartículas, representam avanços importantes na busca por vacinas que sejam seguras, eficazes e econômicas (MIAUTON *et al.*, 2023). Essas inovações podem ajudar a superar os problemas das plataformas atuais, como a baixa imunogenicidade e os desafios logísticos em locais de baixa infraestrutura.

Em resumo, embora o desenvolvimento das vacinas tenha alcançado progressos relevantes, há um longo caminho para a criação de uma vacina ideal que

garanta uma proteção robusta e duradoura contra todos os sorotipos do DENV, contribuindo de maneira significativa para o controle global da dengue.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de vacinas contra a dengue tem avançado consideravelmente, impulsionado pelo progresso nas tecnologias imunológicas e nas estratégias de controle da doença. Entre as vacinas disponíveis ou em fase de testes, destacam-se diferentes abordagens, como vacinas vivas atenuadas, de subunidade, inativadas, de DNA e baseadas em vetores virais. Apesar dessas conquistas, o desafio persiste em criar uma vacina capaz de garantir proteção ampla e robusta contra todos os sorotipos do vírus DENV.

As vacinas CYD-TDV (Dengvaxia), TAK-003 (Qdenga) e TV003 demonstram potencial no combate à dengue, mas enfrentam desafios complexos relacionados à segurança e eficácia. Uma preocupação importante é a amplificação dependente de anticorpos, que pode intensificar o risco de formas graves da doença em indivíduos que nunca tiveram contato prévio com o vírus. Além disso, as diferenças de eficiência observadas entre regiões geográficas e faixas etárias destacam a necessidade de estudos clínicos complementares e acompanhamento contínuo para aprimorar as estratégias de vacinação e garantir a melhor proteção possível para diversas populações.

Em conclusão, apesar dos avanços significativos no desenvolvimento de vacinas contra a dengue, desafios importantes ainda precisam ser superados. Isso exige a colaboração entre pesquisadores, governos e organizações internacionais, para garantir que as vacinas sejam capazes de atender à necessidade de imunização em larga escala com segurança e eficácia. Este estudo buscou aprofundar o entendimento dos aspectos técnicos e imunológicos envolvidos na vacinação contra a dengue, a fim de contribuir com conhecimentos relevantes para a formulação de políticas de saúde pública e a implementação de programas de vacinação mais eficientes.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 8. ed. rev. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2015. 552 p. ISBN 978-85-352-8164-4.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Arboviroses**. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/arboviroses>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue**. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue**: 8 dúvidas sobre a doença para você se proteger. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-com-ciencia/noticias/2024/fevereiro/dengue-8-duvidas-sobre-a-doenca-para-voce-se-proteger#:~:text=Vale%20ressaltar%20que%2C%20por%20recomenda%C3%A7%C3%A3o,dengue%20com%20sinais%20de%20alarme..> Acesso em: 05 ago. 2024.

CHAVES, L. C. S. **Uso de baculovírus como ferramenta para produção de antígenos vacinais e “virus like particles” (VLPs)**. 2016. 201 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

COICO, R.; SUNSHINE, G. **Immunology**: a short course. 6. ed. 2009. Tradução por Eiler Fritsch Toros. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda., 2010. 380 p.

COLLEGE OF PHYSICIANS OF PHILADELPHIA (org.). **How are Vaccines Made? Human Cell Strains in Vaccine Development**. 2018. History of vaccines. Disponível em: https://historyofvaccines.org/vaccines-101/how-are-vaccines-made/human-cell-strain-s-vaccine-development?hc_location=ufi. Acesso em: 13 set. 2024.

DALE, D. C. **Visão geral da leucopenias**. 2023. Merck; Co., Inc., Rahway, NJ, EUA e suas afiliadas. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/hematologia-e-oncologia/leucopenias/v%C3%A3o-geral-da-leucopenias>. Acesso em: 12 set. 2024.

DELVES, P. J. **Componentes celulares do sistema imunitário**. 2024. Merck; Co., Inc., Rahway, NJ, EUA e suas afiliadas. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/imunologia-dist%C3%BArbios-al%C3%A9rgicos/biologia-do-sistema-imunit%C3%A1rio/sistema-complemento>. Acesso em: 22 set. 2024.

DURBIN, A. P. Historical discourse on the development of the live attenuated tetravalent dengue vaccine candidate TV003/TV005. **Current Opinion In Virology**,

[S.L.], v. 43, p. 79-87, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2020.09.005>.

FRANCO, D. G. Fator de transcrição nuclear kappa B no sistema nervoso central: do fisiológico ao patológico. **Revista da Biologia**, São Paulo, v. 4, p. 35-39, jun. 2010. Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, USP.

FRIBERG, H. *et al.* Cell-Mediated Immunity Generated in Response to a Purified Inactivated Vaccine for Dengue Virus Type 1. *Msphere*, [S.L.], v. 5, n. 1, 26 fev. 2020. **American Society for Microbiology**. <http://dx.doi.org/10.1128/msphere.00671-19>.

GALVÃO, T. F.; PEREIRA, M. G. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 183-184, mar. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <https://doi.org/10.5123/S1679-49742014000100018>.

HARAPAN, H. *et al.* Dengue: a minireview. **Viruses**, [S.L.], v. 12, n. 8, p. 829, 30 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v12080829>.

HASSAN, M. *et al.* Dengue Vaccines: ongoing challenges and current status in the advancement of different candidates. **Critical Reviews In Eukaryotic Gene Expression**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 7-19, 2021.

IZMIRLY, A. M. *et al.* Challenges in Dengue Vaccines Development: pre-existing infections and cross-reactivity. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 11, 16 jun. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.01055>.

KHAN, M. B. *et al.* Dengue overview: an updated systemic review. **Journal Of Infection And Public Health**, [S.L.], v. 16, n. 10, p. 1625-1642, out. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2023.08.001>.

KUTER, D. J. **Considerações gerais sobre a trombocitopenia**. 2024. Merck; Co., Inc. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt/casa/dist%C3%BArbios-do-sangue/dist%C3%BArbios-das-plaquetas/considera%C3%A7%C3%B5es-gerais-sobre-a-trombocitopenia>. Acesso em: 10 set. 2024.

LEDO, M. E. **Estudos de desafio com humanos e o debate ético na área científica**. 2020. Rede D'Or São Luiz. Disponível em: <https://www.rededorsaoluiz.com.br/instituto/idor/estudos-de-desafio-com-humanos-e-o-debate-etico-na-area-cientifica/#:~:text=%E2%80%9CHuman%20challenge%20trial%E2%80%9C%2C%20express%C3%A3o,de%20uma%20vacina%20ou%20tratamento>. Acesso em: 10 set. 2024.

LEMOS, M. **Alanina Aminotransferase (ALT): o que é e o que significa TGP alto ou baixo**. 2024. Tua Saúde. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/para-que-serve-o-teste-de-alanina-aminotransferase/#:~:>

ext=O%20exame%20da%20alanina%20aminotransferase,e%2056%20U%2FL%20de. Acesso em: 12 set. 2024.

LEMOS, M. **Exame PCR**: o que é, para que serve e resultados. 2024. Tua Saúde. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/exame-pcr/>. Acesso em: 22 set. 2024.

LEMOS, M. **Teste ELISA**: o que é, para que serve, como é feito (e resultados). 2024. Tua Saúde. Disponível em: https://www.tuasaude.com/exame-elisa/#google_vignette. Acesso em: 16 set. 2024.

LIN, L. *et al.* Immunogenicity of a Live-Attenuated Dengue Vaccine Using a Heterologous Prime-Boost Strategy in a Phase 1 Randomized Clinical Trial. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 223, n. 10, p. 1707-1716, 23 set. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiaa603>.

MA, E.; CHENG, G. Host immunity and vaccine development against Dengue virus. **Infectious Medicine**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 50-58, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imj.2021.12.003>.

MARTINEZ, D. R.; METZ, S. W.; BARIC, R. S. Dengue Vaccines: the promise and pitfalls of antibody-mediated protection. **Cell Host; Microbe**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 13-22, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2020.12.011>.

MIAUTON, A. *et al.* Safety and immunogenicity of a synthetic nanoparticle-based, T cell priming peptide vaccine against dengue in healthy adults in Switzerland: a double-blind, randomized, vehicle-controlled, phase 1 study. **Ebiomedicine**, [S.L.], v. 99, jan. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104922>.

MORELLI, A. B. *et al.* ISCOMATRIX: a novel adjuvant for use in prophylactic and therapeutic vaccines against infectious diseases. **Journal Of Medical Microbiology**, [S.L.], v. 61, n. 7, p. 935-943, 1 jul. 2012. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.040857-0>.

MUNIZ, E. **Adjuvantes e Imunomoduladores**: Componentes Fundamentais Das Vacinas. 2023. Zoetis Brasil. Disponível em: <https://www2.zoetis.com.br/painel-da-avicultura/posts/144-adjuvantes-e-imunomoduladores-componentes-fundamentais-das-vacinas>. Acesso em: 13 set. 2024.

MUSTAFA, M.S. *et al.* Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): a new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**, [S.L.], v. 71, n. 1, p. 67-70, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mjafi.2014.09.011>.

ODIO, C. D. *et al.* Phase 1 trial to model primary, secondary, and tertiary dengue using a monovalent vaccine. **Bmc Infectious Diseases**, [S.L.], v. 23, n. 1, 23 maio 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-023-08299-5>.

OLIVEIRA, A. S. de. **Expressão Heteróloga do Domínio III da proteína de Envelope (E) do vírus da Dengue-1 e 2 em *Pichia pastoris***. 2011. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

Organização Mundial da Saúde (OMS). **Dengue – Situação global**. 21 de dezembro de 2023. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498>

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/OMS). **Casos de dengue nas Américas ultrapassam 3 milhões em 2019**. 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/news/12-2-2020-cases-dengue-americas-exceeded-3-million-2019>.

PAGE, M. J. *et al.* A declaração PRISMA 2020: diretriz atualizada para relatar revisões sistemáticas. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [S.L.], v. 46, p. 1, 30 dez. 2022. Pan American Health Organization. <http://dx.doi.org/10.26633/rpsp.2022.112>.

PATEL, S. S. *et al.* An open-label, Phase 3 trial of TAK-003, a live attenuated dengue tetravalent vaccine, in healthy US adults: immunogenicity and safety when administered during the second half of a 24-month shelf-life. **Human Vaccines; Immunotherapeutics**, [S.L.], v. 19, n. 2, ago. 2023. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2023.2254964>.

PINHEIRO-MICHELSSEN, J. R. *et al.* Anti-dengue Vaccines: from development to clinical trials. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 11, 18 jun. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.01252>.

PROMPETCHARA, E. *et al.* Dengue vaccine: global development update. **Asian Pacific Journal Of Allergy And Immunology**, [S.L.], v. 38, p. 178-185, 2020. Allergy, Asthma, and Immunology Association of Thailand. <http://dx.doi.org/10.12932/ap-100518-0309>.

RICO-HESSE, R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. **Virology**, [S.L.], v. 174, n. 2, p. 479-493, fev. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90102-w](http://dx.doi.org/10.1016/0042-6822(90)90102-w).

SAWANT, J.; PATIL, A.; KURLE, S. A Review: understanding molecular mechanisms of antibody-dependent enhancement in viral infections. **Vaccines**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 1240, 14 jul. 2023. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/vaccines11071240>.

SOUZA, L. R. *et al.* Using amino acids co-occurrence matrices and explainability model to investigate patterns in dengue virus proteins. **BMC Bioinformatics**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 1-10, 19 fev. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12859-022-04597-y>.

TRICOU, V. *et al.* Characterization of the cell-mediated immune response to Takeda's live-attenuated tetravalent dengue vaccine in adolescents participating in a phase 2 randomized controlled trial conducted in a dengue-endemic setting. **Vaccine**, [S.L.], v. 40, n. 8, p. 1143-1151, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.01.016>.

TRICOU, V. *et al.* Long-term efficacy and safety of a tetravalent dengue vaccine (TAK-003): 4-5-year results from a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet Global Health*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 257-270, fev. 2024. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s2214-109x\(23\)00522-3](http://dx.doi.org/10.1016/s2214-109x(23)00522-3).

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Centro de Recursos Computacionais - Cercomp. **Estudos de coorte**. Goiânia. p. 62-90, out. 2006. Disponível em: <https://posstrictosensu.iptsp.ufg.br/n/4845-material-de-epidemiologia>. Acesso em: 10 set. 2024.

UNO, N.; ROSS, T. M. Dengue virus and the host innate immune response. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-11, 10 out. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1038/s41426-018-0168-0>.

U.S. Centers for Disease Control and Prevention (org.). **Dengue**. 2024. CDC. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dengue/areas-with-risk/index.html> Acesso em: 07 nov. 2024.

WILKEN, L.; RIMMELZWAAN, G. F. Adaptive Immunity to Dengue Virus: slippery slope or solid ground for rational vaccine design?. **Pathogens**, [S.L.], v. 9, n. 6, p. 470-476, 15 jun. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens9060470>.

YAUCH, L. E.; SHRESTA, S.. Dengue Virus Vaccine Development. **Advances In Virus Research**, [S.L.], p. 315-372, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-800098-4.00007-6>.

YLADE, M. *et al.* Effect of single-dose, live, attenuated dengue vaccine in children with or without previous dengue on risk of subsequent, virologically confirmed dengue in Cebu, the Philippines: a longitudinal, prospective, population-based cohort study. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 737-745, jul. 2024. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(24\)00099-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(24)00099-9).

ZELLWEGER, R. M. *et al.* CD8 + T Cells Can Mediate Short-Term Protection against Heterotypic Dengue Virus Reinfection in Mice. **Journal Of Virology**, [S.L.], v. 89, n. 12, p. 6494-6505, 15 jun. 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00036-15>.