



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470

CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil

Telefone:(55-11)3061-7066 e 3064-5132 FAX: (55-11) 3064-5132 e 3062-2174



Projeto de Desenvolvimento de uma Vacina contra Dengue pelo Instituto Butantan

Expedito JA Luna ¹ & Isaias Raw ²

1 – Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo

2 – Fundação Butantan

A emergência da dengue enquanto uma pandemia, atingindo praticamente todas as populações residentes nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, nas últimas três décadas, põe em evidência a necessidade de desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz, que seja capaz de prevenir a infecção pelos quatro sorotipos do vírus.

Os esforços no sentido do desenvolvimento de vacinas contra dengue iniciaram-se há mais de sessenta anos. Na última década, com a incorporação da biologia molecular ao desenvolvimento de vacinas, grandes avanços foram realizados. No momento existem pelo menos sete produtos candidatos à vacina contra dengue em fase avançada de experimentação. Quatro deles já adentraram as fases de avaliação de segurança e imunogenicidade em seres humanos, com a realização de ensaios em fases I e II. Um destes produtos vem sendo desenvolvido pelo Laboratório de Doenças Infecciosas dos Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos. Em conjunto à organização Pediatric Dengue Vaccine Initiative (PDVI), e com o financiamento da Bill & Melinda Gates Foundation, foi posto em execução um plano para acelerar o desenvolvimento e a conseqüente disponibilização de uma vacina tetravalente de baixo custo contra dengue ¹. A esta iniciativa incorporaram-se três produtores de vacinas de países em desenvolvimento, dois deles localizados na Índia e o Instituto Butantan.

A vacina está sendo desenvolvida por técnicas de genética reversa. Inicialmente a atenuação do vírus DEN4 foi conseguida pela deleção de $\Delta 30$ nucleotídios na região

3'-UTR. Esta vacina foi testada em ensaios pré clínicos e em ensaio clínico em fase I com 20 voluntários. Demonstrou-se a segurança do produto. Nenhum voluntário apresentou quadro sintomático “dengue like”. 50% deles apresentaram “rash” maculopapular constatado ao exame físico, mas não referido enquanto sintoma, exceto por um deles. Todos os voluntários desenvolveram anticorpos neutralizantes (GMT 1:399) ². Mosquitos que fizeram repasto nesses voluntários não se infectaram ³. Em seguida foi realizado um novo ensaio em fase II para ajuste da dosagem do produto. Oitenta voluntários foram divididos em quatro grupos, que receberam diferentes dosagens da vacina. A concentração antigênica de 10^3 foi considerada a mais apropriada⁴.

Usando-se a mesma técnica foi atenuado o vírus DEN1. A vacina rDEN1Δ30 demonstrou perfil semelhante à rDEN4Δ30 nos modelos animais. Em ensaio em fase I foi demonstrada a sua segurança e imunogenicidade. Entretanto, ao se repetir a mesma técnica com os vírus DEN2 e DEN3, não se conseguiu demonstrar sua atenuação em modelos animais, e esses produtos não foram levados à avaliação clínica ⁵. Procurou-se então um novo modelo de atenuação, com a construção de quimeras antigênicas. Os genes M e E do vírus rDEN4Δ30 foram substituídos pelos genes M e E dos vírus DEN2 e DEN3. Foi demonstrada a segurança, imunogenicidade e proteção após desafio em rhesus, dos produtos monovalentes rDEN2/4Δ30 e rDEN3/4Δ30, bem como de uma formulação tetravalente contendo estas duas quimeras e os vírus atenuados rDEN4Δ30 e rDEN1Δ30 ⁶.

Os dois produtos quiméricos rDEN2/4Δ30 e rDEN3/4Δ30 foram submetidos a ensaio clínico em fase I. Mais uma vez demonstrou-se a segurança dos produtos, porém houve problemas com a resposta sorológica ao rDEN3/4Δ30. Apenas 30% dos voluntários apresentaram anticorpos neutralizantes. Foi realizado novo ensaio, com aumento da concentração de antígeno de 10^3 para 10^5 PFU. Neste novo ensaio 56% dos voluntários apresentaram soroconversão (5/9). Com esses resultados, continuou a busca por um novo produto candidato à vacina contra o DEN3. No momento, três novos construtos estão em avaliação pré clínica e clínica. Espera-se um resultado satisfatório ainda no ano em curso.

Em parceria com o PDVI o Instituto Butantan vem executando o plano de transferência tecnológica para viabilizar o desenvolvimento da vacina no Brasil. Já foi obtida parte do financiamento para a implantação de uma planta de produção piloto e realização dos ensaios. Foi feita a encomenda dos equipamentos necessários à planta de

produção em escala industrial, e iniciada a elaboração do projeto de engenharia e arquitetura. Em paralelo, em parceria com a USP, estão sendo selecionados sítios para realização de estudos epidemiológicos sobre a dinâmica da transmissão da dengue em crianças no Brasil e estudos de factibilidade para os futuros ensaios clínicos da vacina a serem realizados no Brasil.

Referências Bibliográficas

- 1) Edelman R. Dengue vaccines approach the finish line. 2007 *Clinical Infectious Diseases* 45 (Suppl. 1): S56-S60
- 2) Durbin AP, Karron RA, Sun W et al. Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3'- untranslated region. 2001 *Am J Trop Med Hyg* 65: 405 – 13
- 3) Troyer JM, Hanley KA, Whitehead SS et al. A live attenuated recombinant dengue 4 virus vaccine candidate with restricted capacity for dissemination in mosquitoes and lack of transmission from vaccines to mosquitoes. 2001 *Am J Med Trop Hyg* 65: 414 – 19
- 4) Durbin AP, Whitehead SS, McArthur J, Perreault, JR, Blaney, JE et al. rDEN4 Δ 30, a live attenuated dengue virus type 4 vaccine candidate, is safe, immunogenic, and highly infectious in healthy adult volunteers. 2005 *Journal of Infectious Diseases* 191: 710 – 18
- 5) Blaney JE, Durbin AP, Murphy BR & Whitehead SS. Development of a live attenuated dengue virus vaccine using reverse genetics. 2006 *Viral Immunology* 19: 10 – 32
- 6) Blaney, JE, Matro JM, Murphy BR & Whitehead SS. Recombinant, live-attenuated tetravalent dengue virus vaccine formulation induce a balanced, broad and protective neutralizing antibody response against each of the four serotypes in rhesus monkeys. 2005 *Journal of Virology* 79:5516 – 28