



MINISTÉRIO DA SAÚDE

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA

COORDENAÇÃO DE ENSINO E PESQUISA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM
SAÚDE

LUCIA TERESA CÔRTEZ DA SILVEIRA

REVISÃO SISTEMÁTICA DA EFICÁCIA DA VACINA DA DENGUE

RIO DE JANEIRO

2016

LUCIA TERESA CÔRTEZ DA SILVEIRA

REVISÃO SISTEMÁTICA DA EFICÁCIA DA VACINA DA DENGUE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Tecnologias em Saúde (Mestrado Profissional), do Instituto Nacional de Cardiologia, como requisito à obtenção do título de Mestre.

Orientadores: Prof. Dr. Bernardo Rangel Tura
MSc Carlos Alberto da Silva Magliano

RIO DE JANEIRO

2016

S587r Silveira, Lucia Teresa Côrtes da

Revisão Sistemática da Eficácia da Vacina da Dengue / Lucia Teresa Côrtes da Silveira. – Rio de Janeiro, 2016.

51f.

Dissertação (Mestrado Profissional em Avaliação de Tecnologias em Saúde) Instituto Nacional de Cardiologia – INC

1. Dengue 2. Vacinas 3. Vírus da Dengue 4. Economia da Saúde I. Título.

LUCIA TERESA CÔRTEZ DA SILVEIRA

REVISÃO SISTEMÁTICA DA EFICÁCIA DA VACINA DA DENGUE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Tecnologias em Saúde (Mestrado Profissional), do Instituto Nacional de Cardiologia, como requisito à obtenção do título de Mestre.

Aprovado em:

Membros da Banca:

Prof.^a Marisa Santos – INC (presidente)

Prof. José Cerbino Neto – INI/FIOCRUZ (membro)

Prof.^a Maria Cristina Caetano Kuschnir – INC (membro)

DEDICATÓRIA

- À minha mãe que me conduziu até aqui;
- A meu pai pelo alicerce ético;
- À tia Ude por seu amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, sempre;
- Aos professores Bernardo Tura e Marisa Santos, por tudo que aprendi em Avaliação de Tecnologia em Saúde;
- Aos professores José Cerbino e Valéria Saraceni, pelo inestimável incentivo;
- A Carlos Magliano meu co-orientador e ao meu amigo Kadu, pela ajuda no texto.
- À Isabel pela ajuda na seleção dos estudos.
- Aos companheiros da luta contra a dengue, Carlos Brito, Giovanini Coelho, Kleber Luz, Leônidas Braga, Lucia Rocha, Rivaldo Venâncio, Rodrigo Said;
- Ao grande mestre, Professor Eric Martinez;
- Ao Bento meu marido, e às minhas amadas filhas Amanda e Carolina. Que além do amor, dedicaram muito do seu tempo em organizar e me salvar, quando tudo estava perdido em algum lugar do espaço cibernético. Carol foi o motor de toda a informática e Amanda a paciência, encontrava tudo que estava perdido.

“Tão importante como evitar a transmissão da dengue é a preparação dos serviços de saúde para atender adequadamente os pacientes suspeitos e evitar óbitos. Devemos aspirar a não ter epidemias, mas, caso elas ocorram, devemos evitar os óbitos. Um bom gestor é capaz de salvar muito mais vidas durante uma epidemia de dengue do que os médicos.”

(Eric Martinez – 2006)

RESUMO

Dengue é uma doença infecciosa viral, causada por arbovírus do gênero *Flavivirus*, do qual são reconhecidos quatro sorotipos circulantes, sendo eles Dengue Vírus (DENV) tipo 1 (DENV-1), tipo 2 (DENV-2), tipo 3 (DENV-3) e tipo 4 (DENV-4). Seus principais vetores no ambiente urbano são os mosquitos do gênero *Aedes*, o *aegypti* e o *albopictus*. O presente estudo realizou uma revisão sistemática, seguida de metanálise da eficácia da vacina da dengue em prevenir dengue sintomática, com o intuito de obter uma estimativa mais precisa dos parâmetros de eficácia da vacina. Foi realizada busca sistemática na base de dados *Medline* via *Pubmed*, na Biblioteca *Cochrane*, no *LILACS* e no *EMBASE*, identificando Ensaio Clínico Randomizado (ECR) publicados entre 2000 e 2016 e avaliados por dois revisores independentes. Na metanálise foram incluídos sete ECR, somando uma população de 36.371, onde 30 não foram randomizados e 24.257 foram randomizados para receber a vacina e 12.114 para receber o placebo ou outra não intervenção. A eficácia da vacina foi de 44%, variando entre 25% e 59%, com uma heterogeneidade de 80,1%. Que não pode ser explicada pela meta-regressão que avaliou o efeito da soropositividade, do vírus e da idade, mas que pode ser devida ao efeito não uniforme da vacina na prevenção de casos sintomáticos de dengue de acordo com o sorotipo, observada na metanálise estratificada que mostrou pequena heterogeneidade (10,3%) para o sorotipo 4 e heterogeneidade significativa (64,5%) para o sorotipo 2. O impacto orçamentário foi calculado para um prevalência de 70% de soropositividade na população entre 9 e 45 anos, os valores foram retirados da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED) e do Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos, Órteses, Próteses e Materiais de Síntese do SUS (SIGTAP). O total calculado foi R\$ 16.256.587.187,80, R\$ 18.062.874.620,20 e R\$ 25.288.024.349,80, vacinando respectivamente 45%, 50% e 70% da população, o que representa aproximadamente 14%, 16% e 22% do orçamento do Ministério da Saúde para 2016. Em conclusão, a eficácia da vacina é baixa em prevenir dengue sintomática. E por outro lado, o impacto orçamentário é muito alto.

Palavras-chave: Dengue; Vacinas; Vírus da Dengue; Economia da Saúde.

ABSTRACT

Dengue is an arboviral infectious disease with four main circulating serotypes- dengue viruses – DENV -1, DENV-2, DENV- 3 and DENV-4. Its main vectors in the urban environment are the *Aedes* mosquitoes, both *aegypti* and *albopictus*. This study aimed to perform a systematic review, followed by a meta-analysis of vaccine efficacy in preventing clinically symptomatic dengue, in order to get a more accurate estimation of vaccine efficacy parameters. The search was conducted in MEDLINE by PubMed, Cochrane Library, LILACS and EMBASE, identifying randomized controlled trials (RCTs) published between 2000 and 2016 and always evaluated by two independent reviewers. In the meta-analysis were included seven randomized and placebo-controlled studies, with a total population of 36,371: 24,257 randomized to receive the vaccine and 12,114 to receive placebo or other nonintervention. The vaccine efficacy was 44%, between 25% and 59% with heterogeneity of 80.1%. This cannot be explained by the meta-regression that evaluated the effect of seropositivity, virus and age, but may be due to the non-uniform effect of the vaccine in the prevention of symptomatic cases of dengue according to the serotype, observed in the stratified meta-analysis which showed small heterogeneity (10.3%) for serotype 4 and significant heterogeneity (64.5%) for serotype 2. The impact in the budget was calculated for a prevalence of 70% seropositivity in the population between 9 and 45 years old, values were taken from the CMED (medical market regulation) and the SIGTAP (Medicines, orthoses, prostheses and synthesis materials management regulation system of SUS). The estimated total was R\$ 16,256,587,187.80, R\$ 18,062,874,620.20 and R\$ 25,288,024,349.80, respectively vaccinating 45%, 50% and 70% of the population, which represents approximately 14%, 16% and 22% of the Ministry of Health's budget for 2016. In conclusion, the efficacy of the vaccine is low in preventing symptomatic dengue and, on the other hand, the budgetary impact is very high.

Key words: Dengue; Vaccines; Dengue Virus; Health Economics.

Lista de Ilustrações

Figura 1 – Organograma das manifestações clínicas da dengue em 1997.....	21
Figura 2 – Organograma das manifestações clínicas da dengue em 2009.....	21
Figura 3 – Prisma de seleção.....	31
Figura 4 – Metanálise da eficácia da vacina	36
Figura 5 - Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 1.....	36
Figura 6 - Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 2.....	37
Figura 7 - Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 3.....	37
Figura 8 - Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 4.....	37

Lista de Quadros

Quadro 1- Elaboração da pergunta estruturada	26
Quadro 2- Estratégia de busca por banco de dados	27

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Distribuição dos sorotipos virais de dengue em 2015, por região	16
Tabela 2 – Soropositividade no início dos estudos	32
Tabela 3 – Descrição das características dos estudos incluídos	34
Tabela 4 – Análise da qualidade dos artigos segundo a ferramenta da colaboração Cochrane.....	35
Tabela 5 – Projeção da população do Brasil por idade de 9 a 45 anos, para 2016 ..	38
Tabela 6 – Custo da sorologia.....	38
Tabela 7 – Impacto orçamentário.....	38
Tabela 8 – Impacto orçamentário no cenário mais favorável à vacina.....	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 - Laboratório.....	16
1.2 - Aspectos virais.....	16
1.3 - O mosquito vetor.....	17
1.4 - Sorotipos virais e imunopatogenia.....	18
1.5 - Aspecto clínico	20
1.6 - Classificação clínica.....	20
1.7 - Custo	21
1.8 - Vacinas	23
2. OBJETIVOS	25
3. MÉTODOS	26
3.1 - Identificação e seleção dos estudos	26
3.2 - Avaliação do risco de viés.....	27
3.3 - Extração de dados	28
3.4 - Análise estatística dos dados.....	28
3.5 - Análise de impacto orçamentário.....	28
4. RESULTADOS	31
4.1 - Seleção de estudos	30
4.2 - Características dos estudos e participantes.....	32
4.3 - Avaliação do risco de viés.....	35
4.4 - Eficácia da vacina da dengue	35
4.5 - Impacto orçamentário	38
5. DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÃO	47
Referências Bibliográficas	48

1 INTRODUÇÃO

Dengue é uma doença infecciosa viral, causada por arbovírus do gênero *Flavivirus* (1, 2) de genoma RNA, do qual são reconhecidos quatro sorotipos circulantes – dengue vírus - DENV-1 DENV-2, DENV-3 e DENV-4; há ainda a possibilidade ainda não confirmada de um quinto sorotipo DENV-5, que teria sido isolado na Malásia em 2007 e anunciado em 2013 (3-5). Os principais vetores da dengue no ambiente urbano são os mosquitos pertencentes ao gênero *Aedes*, o *Aedes aegypti* (1, 2, 6) e o *Aedes albopictus* (1, 6). No Brasil, a transmissão ocorre pela picada do *Aedes aegypti* (7). A dengue é hoje a arbovirose mais importante do mundo. Cerca de 2,5 bilhões de pessoas encontram-se sob risco de se infectarem, particularmente em países tropicais. (1)

A incidência de dengue tem crescido dramaticamente em todo o mundo nas últimas décadas. Uma recente estimativa indica 390 milhões de infecções por dengue por ano (95% intervalo de confiança - IC 284-528 milhões), dos quais 96 milhões (67-136 milhões) são infecções clinicamente manifestas (doença clínica de qualquer gravidade) (8). Outro estudo demonstra que existe uma prevalência estimada de 3,9 bilhões de pessoas, em 128 países, sob risco de se infectarem. (9,10)

O ano de 2015 foi caracterizado por grandes surtos de dengue em todo o mundo, Filipinas mais de 169.000 casos e Malásia com um número superior a 111.000 casos suspeitos de dengue, representando um aumento de 59,5% e 16% do número de casos do ano anterior, respectivamente. Delhi, Índia, registrou sua pior epidemia desde 2006, com mais de 15.000 casos. (10)

A Ilha do Havaí, nos Estados Unidos da América, foi afetada por um surto com 181 casos notificados em 2015 e transmissão em curso em 2016. E países insulares do Pacífico tais como Fiji, Tonga e Polinésia Francesa continuam a registrar casos de dengue. (10)

Estima-se que 500.000 pessoas com dengue grave necessitem de hospitalização a cada ano, e uma grande parte delas são crianças, e estima-se ainda que cerca de 2,5% dos afetados pela dengue morram. (10)

No Brasil em 2015, até a semana epidemiológica 52 (04/01/2015 a 02/01/2016) foram registrados 1.649.008 casos prováveis (casos notificados) de dengue no país, incluindo todas as classificações, exceto os descartados (11). O maior número de

casos no período ocorreu na região Sudeste que registrou 1.026.226 casos, 62,2% dos casos prováveis do país, seguida das regiões Nordeste com 311.519 casos, 18,9%; Centro Oeste com 220.966 casos; 13,4%, Sul com 56.187 casos; 3,4% e Norte 34.110 casos; 2,1% (11). Ao analisar-se a distribuição mensal no país, observa-se que o pico da incidência ocorreu no mês de abril com 229,7 casos/100 mil habitantes, seguido de uma redução no mês de maio com 116,1 casos/100 mil habitantes, tendência que é observada nos meses subsequentes até outubro; a partir de novembro, a incidência começa a apresentar leve tendência de aumento (11). Neste mesmo período de 2015 foram confirmados 1.569 casos de dengue grave e 20.329 casos de dengue com sinais de alarme. Comparativamente no mesmo período de 2014, foram confirmados 764 casos de dengue grave e 8.436 casos de dengue com sinais de alarme. A região com maior número de registros de casos de dengue grave e dengue com sinais de alarme foi a região Sudeste com 863 graves e 15.000 casos de dengue com sinais de alarme. Foram confirmados 863 óbitos por dengue, o que representa um aumento no país de 82,5% em comparação com o mesmo período de 2014, quando foram confirmados 473 óbitos. (11)

Com relação à circulação dos sorotipos virais no país, em 2015, foram enviadas 23.196 amostras para realização do exame de isolamento viral, havendo 8.859 resultados positivos (38,2%). As proporções dos sorotipos virais da dengue (DENV) identificados foram: DENV1 (93,8%), seguido de DENV4 (5,1%), DENV2 (0,7%) e DENV3 (0,4%) (11). As proporções dos sorotipos virais por região da Federação são discriminadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição dos sorotipos virais de dengue confirmados em 2015, por região.

Região	Amostras enviadas (n)	Positivos		Sorotipos confirmados			
		n	%	DENV1	DENV2	DENV3	DENV4
Norte	1.127	223	19,5	64,1	2,7	0,9	32,3
Nordeste	5.464	932	17,1	62,2	4,4	4,4	28,9
Sudeste	10.647	4.700	44,1	97,7	0,6	0,2	1,5
Sul	1.375	862	62,7	95,9	0,0	0,0	4,1
Centro-oeste	4.583	2142	46,7	87,4	0,6	0,0	11,9
Brasil	23.196	8.859	38,2	93,8	0,7	0,4	5,1

Fonte: Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL); Instituto Adolfo Lutz – SP (IAL); Instituto Evandro Chagas – PA (IEC) (atualizado em 29/12/2015).

1.1 Laboratório

A comprovação laboratorial das infecções pelo vírus da dengue pode ser feita por meio de: isolamento viral, por exames sorológicos ou por métodos moleculares (7,12). O método de escolha para a confirmação laboratorial é a sorologia, existindo várias técnicas, sendo a captura de IgM por Elisa (MAC Elisa - do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) o método de escolha, por detectar infecções atuais ou recentes (7, 12). A amostra deve ser coletada após o 5º dia da doença. Outras técnicas também podem ser utilizadas no diagnóstico sorológico da dengue, incluindo a pesquisa de anticorpos IgG por Elisa, utilizado para detectar infecção prévia pelo vírus da dengue e o teste de inibição de hemaglutinação (IH) (7, 12). O isolamento viral identifica a infecção aguda e o genoma viral específico pode ser identificado através da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), por meio de amostras de sangue total, líquido cérebro-raquidiano e fragmentos de vísceras (fígado, baço, coração, pulmão, rim e cérebro). A detecção de antígenos NS1 por Elisa é um método que pode identificar a infecção ainda na fase aguda, podendo estar presente no soro no primeiro dia após o início dos sintomas. Na fase de convalescência podem ser usados os testes de neutralização de redução em placa e de microneutralização, usado para determinar o sorotipo infectante. (7, 12)

1.2 Aspectos virais

Os vírus da dengue – DENV 1,2,3,4,5 pertencem à família Flaviridae e ao gênero Flavivirus, da qual fazem parte ainda o vírus da febre amarela, o vírus da

febre do oeste do Nilo, a febre do Zika vírus e o vírus da encefalite japonesa (2, 7). Estudos recentes indicam a possibilidade da existência de um novo sorotipo viral de dengue de transmissão silvestre em Sarawak, Malásia (2-5). Do ponto de vista epidemiológico, os DENV são classificados como ARBOVÍRUS, termo abreviado da expressão em inglês *arthropod borne virus*, são vírus que infectam artrópodes vetores e que são transmitidos por esses vetores invertebrados a vertebrados por meio da picada (2). O homem é o único hospedeiro capaz de desenvolver as formas clínicas da dengue (2, 7), o que prejudica o estudo da patogenia pela inexistência de bons modelos experimentais. (7)

O ciclo da replicação viral pode ser subdividido em seis fases: ligação à superfície viral; entrada no citoplasma; produção das proteínas virais; replicação do ácido ribonucléico (RNA); montagem/maturação e saída da célula. Dentre essas fases, cabe ressaltar a fase de ligação à superfície viral, quando o vírus da dengue adere às células do hospedeiro através da ligação da glicoproteína E com proteínas presentes na superfície celular, como o complexo DCSign (molécula não integrina, captadora da molécula de adesão intercelular 3 e específica das DC). No entanto, a entrada mediada por DCSign (molécula não integrina, captadora da molécula de adesão intercelular 3 e específica das DC) não é fundamental para a infectividade do vírus, sugerindo que atue como uma via facilitadora de outros receptores. Esta etapa pode ser facilitada também pela existência de complexos imunes formados pela glicoproteína E ou pela proteína pré-M, com anticorpos não neutralizantes que se ligariam a receptores Fc da superfície celular. (7)

1.3 O mosquito vetor

Os mosquitos transmissores da dengue são *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*; o ciclo de vida de ambas as espécies é muito semelhante, composto das seguintes fases: ovo, quatro estádios larvais, pupa e adulto. As fêmeas grávidas destes mosquitos depositam seus ovos fora da água, aderindo-os individualmente à parede interna e úmida do recipiente, próximo à superfície da água parada. Terminada a embriogênese, as larvas podem nascer minutos após o contato com a água, mas os ovos podem permanecer em latência e viáveis durante várias semanas ou meses se não estiverem dentro da água. Como o desenvolvimento das fêmeas em geral é mais lento que o dos machos, estes já podem copulá-las desde sua emergência, assim, na natureza, a quase totalidade das fêmeas encontra-se fecundada. (2)

Aedes aegypti e *Aedes albopictus* são similares em suas preferências por criadouros, suas formas imaturas podem desenvolver-se juntas num mesmo foco, o que resulta em competição entre as espécies. Ambas as espécies têm os recipientes artificiais, produzidos pelo homem, como os criadouros preferenciais, escolhendo locais onde a água tenha aspecto limpo, transparente, não turva e que não apresente excesso de matéria orgânica em decomposição. No caso do *Aedes aegypti*, os criadouros encontram-se dentro das casas e demais imóveis ou muito próximos a esses. E no caso do *Aedes albopictus*, os criadouros estão localizados fora de casa, em especial em áreas de maior cobertura vegetal. (2)

A transmissão do vírus da dengue (DENV) compreende dois ciclos: o intrínseco, que ocorre no organismo humano durante a viremia, que vai de um dia antes do aparecimento da febre até o sexto dia da doença, e o extrínseco (no mosquito), em que o vírus se multiplica por período de oito a doze dias e, a seguir, migra para as glândulas salivares. A partir de então, o vetor, que é o mosquito fêmea, torna-se competente em transmitir a doença até o final da sua vida, que varia de seis a oito semanas para o *Aedes aegypti*. Um único mosquito em toda a sua vida (45 dias em média) pode contaminar até 300 pessoas (2,7).

O controle do vetor, principal forma de prevenção da dengue, é complexo, multifatorial e multissetorial. E vários são os fatores que extrapolam as ações do setor saúde, dentre os quais destacam-se: o surgimento de aglomerados urbanos; as inadequadas condições de habitação; a irregularidade no abastecimento de água; a destinação imprópria de resíduos; o crescente trânsito de pessoas e cargas entre países e as mudanças climáticas provocadas pelo aquecimento global.

As atividades voltadas ao controle vetorial são consideradas de caráter universal e são divididas em ações de rotina e de emergência (12). E hoje o controle do vetor torna-se cada vez mais necessário, com a circulação de outros arbovírus, como chikungunya e Zika, também transmitidos pelo *Aedes*. (2)

1.4 Sorotipos virais e imunopatogenia

Existem quatro sorotipos virais distintos da dengue (DENV) circulando: os sorotipos DENV 1 a 4, todos com o mesmo potencial de causar dengue de qualquer gravidade (13). A infecção primária por qualquer sorotipo resulta em prolongada imunidade contra o sorotipo infectante e imunidade cruzada temporária contra os

demais, com duração média de 6 meses, período após o qual o indivíduo passa a ser susceptível aos outros três sorotipos virais (13). A gravidade da doença pode ser influenciada por alguns fatores tanto relacionados ao vírus quanto ao hospedeiro. Com relação ao vírus qualquer um dos sorotipos virais pode levar a casos mais graves de dengue, sendo que parece haver uma relação maior da gravidade com a infecção pelo DENV 2 (15,16,17). No que se refere a maior gravidade da doença numa segunda exposição a dengue(14), esta ocorrência foi observada durante a epidemia de dengue em Cuba em 1981 causada pelo sorotipo 2, onde a ocorrência de doença mais grave estava associada a um surto de dengue tipo 1, quatro anos antes (13,14). Entretanto genotipos de menor virulência ou sem virulência, não estão associados a maior gravidade na segunda infecção (18,19). Existem vários casos de dengue de maior gravidade que ocorrem durante a primo infecção, o que reforça a diferença da virulência entre os vírus (20,17). Durante uma epidemia de dengue no Peru em 1995, causada pelo sorotipo 2 e que envolveu cerca de 49.000 casos de infecção secundária em crianças (21), não houve a ocorrência de doença mais grave nesta mesma população exposta a uma epidemia anterior de DENV 1 5 anos antes. Existe também a possibilidade do efeito imunoprotetor de duas infecções anteriores contra a gravidade da doença numa terceira infecção por dengue (22).

Com relação ao hospedeiro os fatores de maior gravidade estão relacionados principalmente a idade, ao estado nutricional e a fatores genéticos. Crianças de três a quatro anos têm um risco maior de internação hospitalar do que as demais. Além disso, crianças pequenas têm 6 a 7 vezes mais probabilidade de internação hospitalar com uma segunda infecção por dengue do que os adultos (23 - 25).

Uma das hipóteses sobre a origem das formas graves da dengue, numa segunda infecção, é a chamada amplificação dependente de anticorpos (26), do inglês *antibody dependent enhancement (ADE)*, onde uma infecção seqüencial funcionaria como fator predisponente para formas graves da dengue, uma vez que anticorpos específicos para um sorotipo são capazes de se ligar às proteínas de outros sorotipos, mas sem os neutralizar. E, ao invés de haver imunidade cruzada, ocorre a facilitação da entrada do vírus nas células, por exemplo, um monócito, onde ele se replicaria, aumentando então o número de células infectadas e a quantidade de vírus circulantes. (7,26,27)

1.5 Aspectos clínicos

A dengue é uma doença sistêmica e dinâmica, com amplo espectro clínico que inclui tanto a forma assintomática, quanto as manifestações clínicas com e sem gravidade (6,28). Após o período de incubação de 4 a 10 dias, a doença tem início abrupto, seguido por três fases - febril, crítica e de recuperação (28). A fase febril dura de 2 a 7 dias; nesta fase a prova do laço positiva pode corroborar o diagnóstico de suspeita da doença. A fase crítica pode ocorrer em geral em torno de 3 a 7 dias da doença, próximo ao período de defervescência, quando ocorre aumento da permeabilidade vascular, com o extravasamento plasmático e consequente hemoconcentração e aumento do hematócrito. O período clinicamente significativo de extravasamento plasmático dura normalmente 24 a 48 horas. Nesta fase pode haver evolução para o choque, que normalmente é precedido pelos sinais de alarme (28): dor abdominal intensa e contínua, vômitos persistentes, hipotensão postural e/ou lipotímia, hepatomegalia dolorosa, sangramento de mucosas, hemorragias importantes (hematêmese e/ou melena), sonolência e/ou irritabilidade, diminuição da diurese, hipotermia, aumento repentino do hematócrito, queda abrupta das plaquetas e desconforto respiratório (29). A fase de recuperação tem início após o paciente vencer as 24 a 48 horas da fase crítica, iniciando-se com a gradual reabsorção do líquido extravasado, o que ocorre nas 48 a 72 horas seguintes. (28)

Apesar das formas graves da doença, os casos graves e os óbitos podem ser evitados, através da implementação da detecção precoce e manejo adequado dos casos graves, da orientação e capacitação dos serviços de saúde na identificação desses casos, na gestão e gerenciamento eficazes dos surtos e epidemias e na instituição de serviços de referência a nível de atenção primária de saúde. (30)

1.6 Classificação clínica

Até o ano de 2009, a então classificação clínica da dengue estava em vigor há mais de três décadas (2). Estimulado pelos diversos relatos das dificuldades no uso da classificação de casos de dengue, pela limitação, complexidade e aplicabilidade dos termos usados, o Programa de Treinamento e Investigação de Enfermidades Transmissíveis da Organização Mundial de Saúde coordenou estudo

multicêntrico para revisar a antiga classificação e propor outra mais adequada para o manejo clínico do paciente e que passou a dividir a doença em: dengue assintomática, dengue sintomática com e sem sinais de alarme e dengue grave. (31,32)

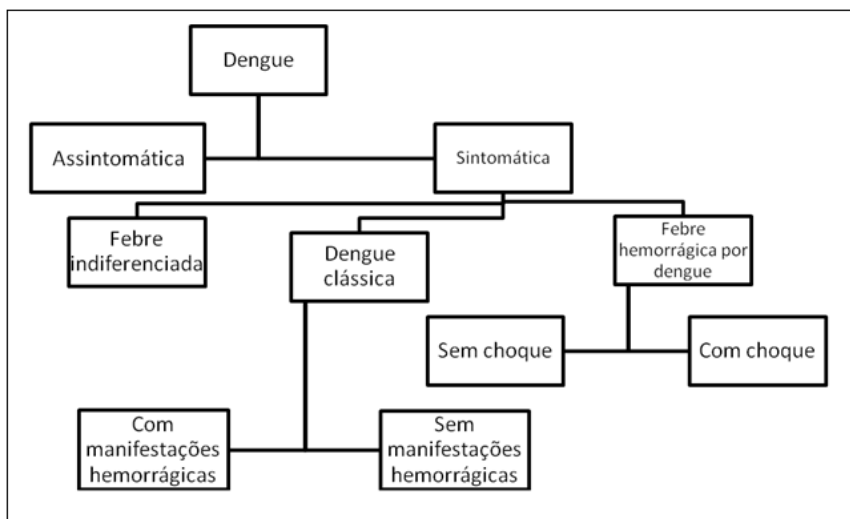


Figura 1 – Organograma das manifestações clínicas da dengue em 1997

Fonte: Souza J L. Dengue Diagnóstico, Tratamento e Prevenção. 2. ed. Rio de Janeiro: Rubio; 2008.

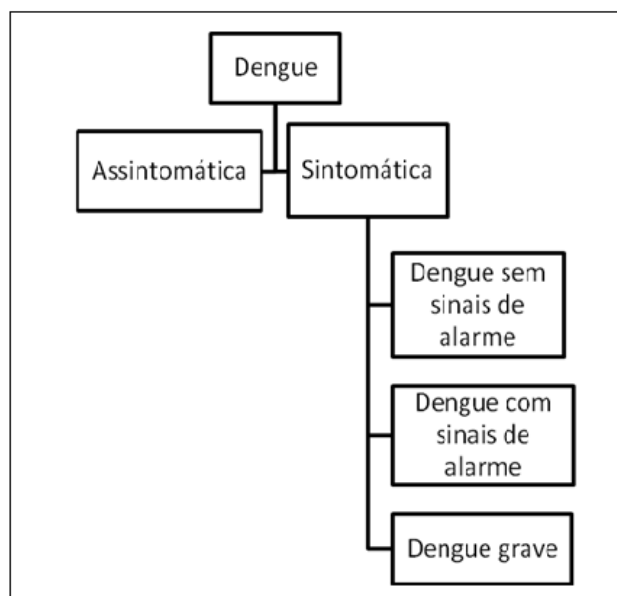


Figura 2 - Organograma das manifestações clínicas da dengue em 2009

Fonte: Valle D, Pimenta D, Cunha R. Dengue Teorias e Práticas. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2015.

1.7 Custo

Foi realizado um estudo englobando países divididos em seis sub-regiões: América do Norte (Estados Unidos e Canadá), América Central e México, a região Andina (Bolívia, Colômbia, Equador, Peru e Venezuela), Brasil, o Cone Sul (Argentina, Chile, Paraguai e Uruguai) e o Caribe, entre os anos de 2000 e 2007, que estimou o custo da doença nas Américas em torno de US\$ 2,1 bilhões por ano, em média (33). Outro estudo prospectivo dos custos diretos e indiretos de casos de dengue ambulatoriais e de internação hospitalar, a maioria no ano de 2005, foi realizado em cinco países da América: Brasil; El Salvador; Guatemala; Panamá e Venezuela e em três países da Ásia: Camboja; Malásia e Tailândia. O custo anual nos oito países em dólares internacionais de 2005 foi em torno de I\$ 587 milhões ajustados pela subnotificação para cerca de I\$ 1,8 bilhão, sem contar com os custos de vigilância epidemiológica e controle do vetor (34). No Brasil, segundo estudo patrocinado pela Sanofi Pasteur, a previsão de gastos com a dengue em 2013 foi de US\$ 1.227.551.975 (dólar americano de 2013), considerando a razão atendimento ambulatorial/internação de 9:1 e sem contar com os custos com o controle do vetor e ações de vigilância (35). Segundo dados do Programa Nacional de Controle da Dengue do Ministério da Saúde houve o aporte financeiro de mais de R\$ 1 bilhão em 2008 para ações de vigilância da dengue (12). E, em 2008, foram gastos pela Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro, nas ações de combate e assistência à epidemia de dengue, R\$ 4.297.197,00 mensais com os centros de hidratação que foram montados por 65 dias, sem contar aqueles que funcionaram em unidades hospitalares, policlínicas e hospitais de campanha do Exército, Marinha e Aeronáutica e com os militares empregados do Corpo de Bombeiros e das Forças Armadas para as ações assistenciais. E R\$ 298.691,00 para as ações de campo para controle do vetor, fora o contrato com a empresa de telemarketing usada para receber informações sobre possíveis focos do vetor. (36)

Desde 2009, com o lançamento das Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue, o Ministério da Saúde (MS) dá ênfase à estratégia de ação por componentes: assistência, vigilância epidemiológica, controle vetorial, comunicação e mobilização social, e cada um destes componentes deve ser observado individualmente pelos estados e municípios na confecção de seus planos de assistência, controle e vigilância da dengue (12). Outra estratégia usada pelo

Ministério da Saúde (MS) foi o incentivo à capacitação assistencial em serviço com o intuito de intervir nos casos graves e nos óbitos (12).

Sendo assim, o cenário epidemiológico mundial sinalizando a ocorrência de epidemias junto com o elevado custo da doença para países, estados e municípios, apontam para a necessidade de uma vacina contra a dengue, de uso em larga escala, como uma estratégia importante para diminuir a incidência da doença na população.

1.8 Vacinas

Por ser a dengue uma arbovirose, além do controle do vetor, uma outra alternativa é o uso de vacinas para sua prevenção primária.

O desenvolvimento de estudos de vacinas contra dengue vem acontecendo desde 1944: 1944-1945: Albert Sabin (1906-1993) identifica os tipos 1 e 2 do vírus e lidera a primeira tentativa de desenvolvimento de uma vacina, mas ela seria apenas contra o sorotipo 1. Entre 1970 e 1980, é desenvolvido na Tailândia o primeiro modelo de vacina contra os quatro sorotipos, sendo pioneira para os modelos tetravalentes em desenvolvimento até hoje (Laboratório Oswaldo Cruz). Atualmente, existem várias vacinas sendo desenvolvidas no mundo todo, nas mais diversas fases de estudo. As três mais avançadas são: (1) a da Sanofi Pasteur, já aprovada no Brasil pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) e pela Anvisa para comercialização que é uma vacina de vírus vivo atenuado quimérico da vacina da febre amarela (YF17/DEN), ou seja, cada cepa expressa os genes da pré-membrana e do envelope de um dos quatro sorotipos do vírus da dengue e tem como base a cepa 17D da vacina da febre amarela; (2) a do Instituto Butantã em parceria com o *National Institutes of Health* que é uma vacina de vírus vivo atenuado segmentado mutagênico DEN/DEN “intertypic” vírus quimérico no início da fase III; e (3) a do Invirage, que é uma vacina de vírus vivo atenuado DEN2 PDK-53 e DEN/DEN “intertypic” vírus quimérico, ainda na fase II. (37)

Neste contexto de arbovirose endêmica, com picos epidêmicos em várias regiões do mundo, de casos graves e alta letalidade, de considerável custo e de difícil controle com as ações que os países vêm desenvolvendo ao longo dos últimos anos e ainda com uma vacina liberada para comercialização no país, este trabalho

objetivou revisar sistematicamente a literatura sobre a eficácia da vacina comercialmente disponível contra a dengue.

Idealmente, uma vacina da dengue deve proteger contra os quatro sorotipos, ser administrada em dose única, ter imunidade de longa duração e não ter efeitos adversos graves. (30)

2 OBJETIVOS

Objetivo Primário:

- Avaliar a eficácia da vacina da dengue em prevenir dengue sintomática.

Objetivos Secundários:

- Avaliar a eficácia da vacina da dengue em prevenir infecção por cada um dos quatro sorotipos.
- Calcular o impacto orçamentário da utilização da vacina da dengue na população brasileira.

3 MÉTODOS

3.1 Identificação e seleção dos estudos

Para a seleção dos artigos, a questão de pesquisa foi formulada na forma do acrônimo PICO (39,39) como consta no quadro 1.

Quadro 1 - Elaboração da pergunta estruturada

População	Pessoas de todas as idades que já tiveram ou não tiveram dengue;
Intervenção	Vacina da Dengue
Comparador	Placebo ou não intervenção
Desfechos (Outcomes)	Redução da incidência de casos de dengue sintomáticos na população

Foi realizada busca nas bases de referências bibliográficas MEDLINE (via PubMed), LILACS (via Biblioteca Virtual de Saúde), Biblioteca Cochrane (via Biblioteca Virtual de Saúde) e EMBASE, visando a localizar ensaios clínicos controlados randomizados que avaliassem a eficácia da vacina da dengue e outros estudos relacionados com a vacina. Só não foram consideradas as séries de casos e as revisões narrativas. A busca foi realizada no período de 2000 a 2016, período correspondente ao maior fomento no desenvolvimento de vacinas contra dengue, com a formulação tetravalente de cepas atenuadas (37) e a aprovação da vacina com fins de comercialização no Brasil. (40)

Tendo em vista que só existe uma vacina da dengue liberada para comercialização, e que as demais estão ainda em estudo, serão considerados os estudos relacionados de fases II e III da vacina já liberada comercialmente.

Foram delineadas estratégias de busca compatíveis com os descritores de cada base pesquisada. Essas estratégias incluíram a pesquisa de descritores ou de palavras no texto relacionados à doença [dengue], e ao tipo de intervenção [vaccines, immunization, dengue vaccine, dengue immunization, vacinas contra dengue, vacina da dengue, vacunas contra el dengue].

As estratégias de busca estão detalhadas no quadro 2.

Quadro 2 - Estratégia de Busca por Banco de Dados

Base de dados	Estratégia de Busca
PUBMED	((vaccines[Mesh] or vaccin*[tw] or immunization[Mesh] or immuniz*[tw] or immunis*[tw]) and (Dengue[Mesh] or Dengue[tw])) or "Dengue Vaccine"[Mesh] not (animals[Mesh] not humans[Mesh])
COCHRANE	Dengue
LILACS	(vacina da dengue) or (vacina contra a dengue) or (dengue vaccines) or (vacunas contra el dengue) or (D.20.215.894.899.162) AND NOT (animals)
EMBASE	(('vaccine'/exp or 'vaccine' or vaccine:ab,ti or 'immunization'/exp or immunization or immunization:ab,ti and ('dengue virus'/exp or 'dengue virus' or dengue:ab,ti) or ('dengue'/exp or dengue and ('vaccine'/exp or vaccine))) and [embase]/lim not [medline]/lim and ([cochrane review]/lim or [systematic review]/lim or [meta analysis]/lim or [controlled clinical trial]/lim or [randomized controlled trial]/lim)) and ('article'/it or 'article in press'/it or 'review'/it)

A busca se limitou a humanos e foi realizada sem qualquer restrição de idioma.

A inclusão considerou os estudos de fase II e fase III que avaliavam a eficácia e segurança da vacina tetravalente contra a dengue; utilizando placebo ou outras vacinas como controle; sem restrição de sexo, idade, e tendo como desfechos a eficácia da vacina contra dengue clinicamente sintomática. Foram excluídos artigos do tipo editoriais, cartas, artigos de revisão, resumos de conferências; estudos em animais; ou vacinas não comercialmente disponíveis.

Tanto a avaliação de títulos e resumos quanto de texto completo foram realizadas por dois revisores (L.T.C.S. e I.C.), de forma independente, com as discordâncias examinadas e resolvidas por um terceiro revisor (B.T.).

Foram examinados os textos selecionados para leitura completa, na tentativa de recuperar artigos relevantes não identificados pelas estratégias de busca. O motivo da exclusão dos estudos será apontado.

3.2 Avaliação do risco de viés

A avaliação do risco de viés dos artigos incluídos foi realizada de forma independente por dois revisores (L.T.C.S. e B.T.), utilizando a ferramenta da colaboração Cochrane para avaliação do risco de viés de ensaios clínicos (41).

Sendo assim, todos os artigos incluídos foram analisados no que diz respeito aos seguintes critérios: viés de seleção - geração da sequência aleatória e ocultação de alocação; viés de performance - mascaramento de participantes e profissionais; viés de detecção - mascaramento de avaliadores de desfecho; viés de atrito - desfechos incompletos; viés de relato - relato de desfecho seletivo. Em outros vieses, optou-se por avaliar o que se refere aos conflitos de interesse, uma vez que todos os trabalhos foram patrocinados pelo fabricante da vacina, e também avaliou-se o uso da classificação clínica da doença da Organização Mundial da Saúde de 1997.

3.3 Extração de dados

Os desfechos de interesse do estudo foram aqueles relacionados com a eficácia da vacina da dengue em prevenir dengue sintomática e secundariamente aqueles ligados à prevenção contra cada um dos quatro sorotipos. Para a extração de dados, foi desenvolvido um formulário padrão com campos referentes às características de identificação dos estudos, ao número de participantes por braço intervenção e controle, fase do estudo, idade e casos de dengue em cada braço.

3.4 Análise estatística dos dados

O tamanho do efeito da intervenção foi estimado usando-se a medida sumária do risco relativo (RR) e o respectivo intervalo de 95% de confiança (IC95%). A eficácia foi estimada como sendo $[1-RR]$ e expressa como porcentagem. Na análise, foram usados os modelos de efeito fixo e de efeito randômico com o resultado expresso em porcentagem. Utilizou-se gráfico do tipo *Forest plot* na apresentação dos resultados da metanálise e comparação dos estudos. O método usado para avaliar a heterogeneidade entre os estudos foi pela inconsistência (I^2). Os valores da I^2 variam de 0-100 %. Para as análises foi empregado o programa R versão 3.3.1 e o pacote meta versão 4.4-1.

3.5 Análise de impacto orçamentário

Para estimar o impacto orçamentário ocasionado em caso de incorporação da vacina da dengue no Sistema Único de Saúde - SUS tomou-se por base o que é

preconizado pela Organização Mundial da Saúde no que tange às condições populacionais para uso da vacina. Foram adotados os seguintes pressupostos: faixa etária de segurança entre 9 e 45 anos e soropositividade de 70% da população (40,42) e para tal utilizou-se a pesquisa de imunoglobulina G (IgG). Para esta análise não foram consideradas as perdas técnicas (quebra de frasco, perda de validade, alterações na rede de frio) sobre o número total de doses, nem a eventual redução do custo em outras áreas da saúde com as ações de prevenção, controle do vetor e tratamento da dengue. As ações de controle do vetor são comuns a outras arboviroses e as ações de prevenção e tratamento se impactadas não o serão em curto prazo (42). Assim no caso de incorporação da vacina, não deverá haver redução do financiamento dos programas de tratamento, prevenção e controle da dengue e outras arboviroses que já vêm sendo desenvolvidos.

Para o cálculo da população dentro da faixa de segurança da vacina de 9 a 45 anos, foi utilizada a projeção da população do Brasil por sexo e idade para o período 2016 obtida a partir de dados do Departamento de Informática do SUS (DATASUS) (43) do ano de 2016 no período de 2000 a 2060. Por ser o Brasil endêmico para dengue, considerou-se que 70% da população total dentro da faixa etária de segurança é soropositiva para dengue, porém também foi considerada a avaliação sorológica do total desta população.

A perspectiva da análise adotada foi a do Sistema Único de Saúde (SUS) como pagador. Os custos diretos da vacina (marca Dengvaxia) no valor de R\$ 88,10, que equivale a uma dose, foram obtidos na tabela da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED) (44) atualizada em 20 de outubro de 2016 e os da sorologia de R\$ 30,00 foram obtidos a partir de valores tabelados retirados do Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos, Órteses, Próteses e Materiais de Síntese do SUS (SIGTAP) (45), com o código de procedimento 02.02.03.079-2 - PESQUISA DE ANTICORPOS IGG CONTRA ARBOVIRUS, competência outubro de 2016. Os custos indiretos de logística da vacina por pessoa vacinada no valor de U\$ 10,00 (dólar em 2013) com taxa de câmbio de R\$ 2,00, R\$ 2,13 e R\$ 2,17, no triênio 2013/15, foram obtidos a partir dos valores contidos no Relatório de Recomendações da Comissão Nacional de Incorporações de Tecnologias no SUS – CONITEC – 82, referente a vacina contra o HPV na prevenção de câncer de colo de útero, pela semelhança quanto ao número

de doses (46). Sendo a taxa de câmbio atualizada em 28 de outubro de 2016 pelos valores do Banco Central do Brasil para R\$ 3,18. (47)

4 RESULTADOS

4.1 Seleção de estudos

Foram identificados 1.902 estudos nas bases pesquisadas, sendo 1.607 eliminados pela leitura de títulos, devido a serem estudos com animais e não atenderem aos critérios de inclusão: estudos não caracterizados como de eficácia e avaliação de vacinas não comercialmente disponíveis. Foram a seguir eliminados 240 pela leitura dos resumos. Dos 55 trabalhos avaliados completamente, dois ensaios clínicos controlados randomizados (48,49) foram incluídos na revisão sistemática e outros cinco (50-54) selecionados através de busca manual, também foram incluídos, por exibirem dados de eficácia da vacina. A figura 3 mostra em resumo os resultados das fases de seleção.

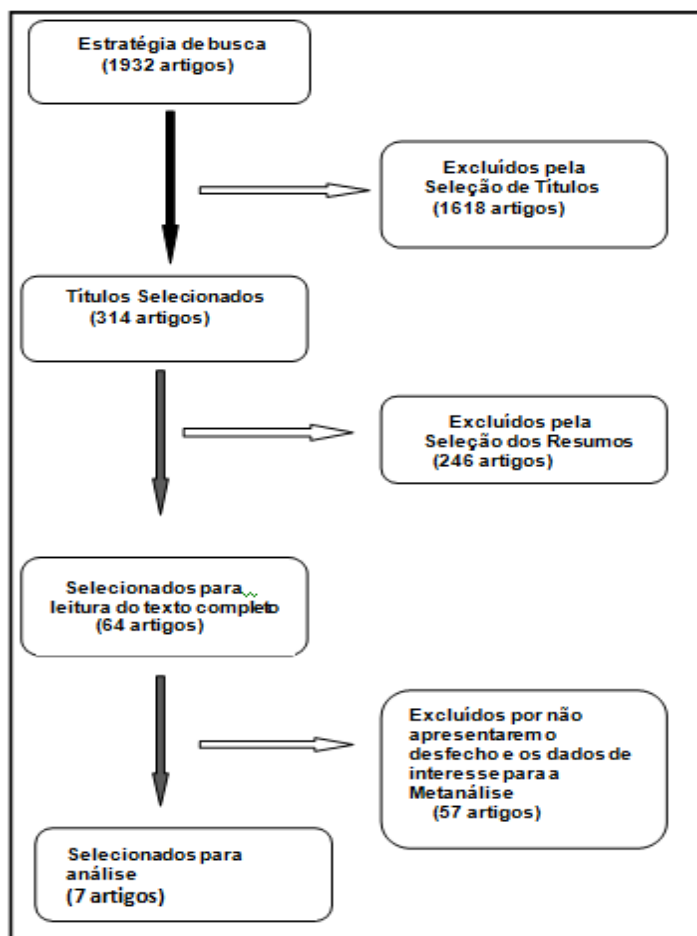


Figura 3 - Prisma de Seleção

4.2 Características dos estudos e participantes

De um total de 36.371 participantes dos estudos selecionados, 30 deixaram de ser randomizados e 24.257 foram randomizados para o grupo intervenção e 12.144 para o grupo controle. A população por ensaio variou entre 150 e 20.869, com faixa etária de 2 a 45 anos. Três trabalhos foram multinacionais (48,49,51), envolvendo múltiplos centros de 4 a 5 países da América Latina e Ásia e quatro trabalhos envolveram apenas um país (50,52-54), sendo 2 trabalhos em países da América latina, Brasil e Peru (50,53) e dois trabalhos em países da Ásia, Tailândia e Vietnã (52,54). Dois trabalhos incluíram pacientes brasileiros e apenas crianças na faixa etária de 9 a 16 anos (50,51), correspondendo a 17% dos sujeitos em um e 100% no outro.

Tabela 2 – Soropositividade No Início dos Estudos

Estudo	Soropositividade grupo vacina*	Soropositividade grupo controle*
Dayan (2013)	69%	71%
Villar (2013)	75%	78%
Tran (2012)	71%	67%
Lanata (2012)	37%	48%
Sabchareon (2012)	70%	69%
Capeding (2014)**	68%	67%
Villar (2015)**	81%	77%

*Soropositividade dos participantes no início dos estudos

** São estudos de fase III e a soropositividade foi pesquisada no subgrupo iatrogenicidade e imunogenicidade e não na totalidade dos participantes

Os participantes foram acompanhados quanto à presença de eventos adversos com tempo de seguimento nos estudos de fase III de 25 meses e nos de fase II em média 6 meses. Os estudos de fase III utilizaram placebo como comparador e os estudos de fase II utilizaram: vacina acelular de difteria tétano e caxumba (51); vacina antirrábica inativada (54); vacina antimeningocócica A+C e vacina polissacarídica da febre tifóide (52); e vacina pneumocócica polissacarídica (53). Todos os trabalhos incluídos eram sobre a vacina da dengue tetravalente de vírus vivo, recombinante, atenuado (CYD-TDV). Todos os esquemas vacinais

incluíram três doses, aplicadas com 0, 6 e 12 meses. Todos os estudos incluídos tiveram como financiador a empresa farmacêutica produtora da vacina comercialmente disponível.

Tabela 3 - Descrição das Características dos Estudos Incluídos

Autor (ano)	País	Desenho	Idade (anos)	Sujeitos	Tempo de seguimento	Vacina	Dengue vacina [‡]	Controle	Dengue controle ^{‡‡}
Villar (2015)	Colômbia, Brasil, México, Honduras e Porto Rico.	ECR fase III	9 a 16	20.869	25 meses após 1ª dose	13.920	280	6.949	388
Capeding (2014)	Indonésia, Malásia, Filipinas, Tailândia e Vietnã.	ECR fase III	2 a 14	10.272	25 meses após 1ª dose	6.848	286	3.424	309
Dayan (2013)	Brasil	ECR fase II	9 a 16	150	6 meses após 3ª dose	100	31	50	15
Villar (2013)	Colômbia, Brasil, México, Honduras e Porto Rico	ECR fase II	9 a 16	600	6 meses após 3ª dose	401	43	199	29
Sabchareon (2012)	Tailândia	ECR fase IIb	4 a 11	4.002	13 meses após 3ª dose	2.669	76	1333	58
Tran (2012)	Vietnã	ECR fase II	2 a 45	180	6 meses após 3ª dose	120	4	60	3
Lanata (2012)	Peru	ECR fase II	2 a 11	298	1 mês após 3ª dose	199	1	99	3

[‡] casos de dengue no grupo dos vacinados

^{‡‡} casos de dengue no grupo controle

4.3 Avaliação do risco de viés

Dos oito domínios considerados da Ferramenta da Colaboração Cochrane (41), todos os trabalhos (48-54) apresentaram alto risco de viés para geração de sequência aleatória, mascaramento de participantes e profissionais, e para outros vieses: conflito de interesse e o uso da classificação clínica da doença da Organização Mundial da Saúde de 1997. Apenas um trabalho apresentou alto risco de viés com relação ao domínio relato de desfecho seletivo (54). Nos demais cinco domínios, todos os trabalhos apresentaram baixo risco de viés, conforme Tabela 3.

Tabela 4 - Análise de qualidade dos artigos segundo a ferramenta da colaboração Cochrane

	Villar (2015)	Capeding (2014)	Dayan (2013)	Villar (2013)	Sabchareon (2012)	Tran (2012)	Lanata (2012)
1- Sequência aleatória							
2- Ocultação da alocação							
3- Mascaramento (participantes e profissionais)							
4- Mascaramento (avaliadores)							
5- Desfechos incompletos							
6- Desfechos seletivos							
7- Conflito de interesse							
8- Classificação Dengue (OMS 1997)							

Legenda:

Baixo Risco de Viés
Risco de Viés Incerto
Alto risco de Viés

4.4 Eficácia da vacina da dengue

Após a seleção dos artigos e a coleta de dados, foi realizada a metanálise que está representada na figura 4. No total foram incluídos 66.511 participantes entre as idades de 2 a 45 anos. O modelo de evento fixo resultou num risco relativo

(RR) de 0,44 (IC 0,40-0,49), entretanto foi observada uma grande heterogeneidade de 80,1%. Desta forma utilizamos a estimativa de efeito randômico que apresentou um RR 0,56 (IC 0,41-0,75), com heterogeneidade I-squared 80.1%, tau-squared = 0,0945, $p < 0,0001$. A eficácia da vacina, na nossa metanálise, foi de 44% variando entre 25% a 59%. Dois grandes estudos (48,49) dominaram sozinhos uma parte considerável do resultado da metanálise. Existe uma discrepância entre resultados destes estudos e aqueles de menor número de participantes (50,52). Dois dos ensaios clínicos têm intervalos de confiança muito largos (52,53). Para fins da modelagem utilizamos apenas os dados dos estudos de maior tamanho, a saber, o estudo de Villar de 2015 (48) e o estudo de Capeding de 2014. (49)

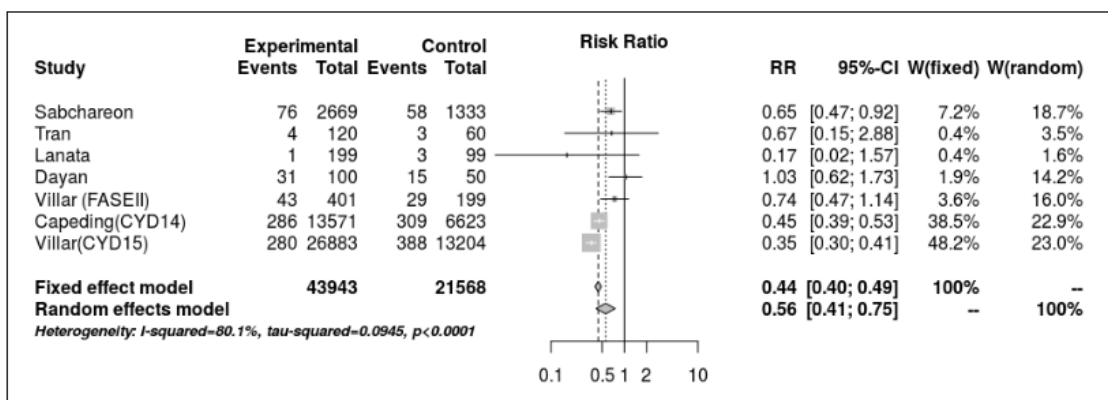


Figura 4 - Metanálise da Eficácia da Vacina

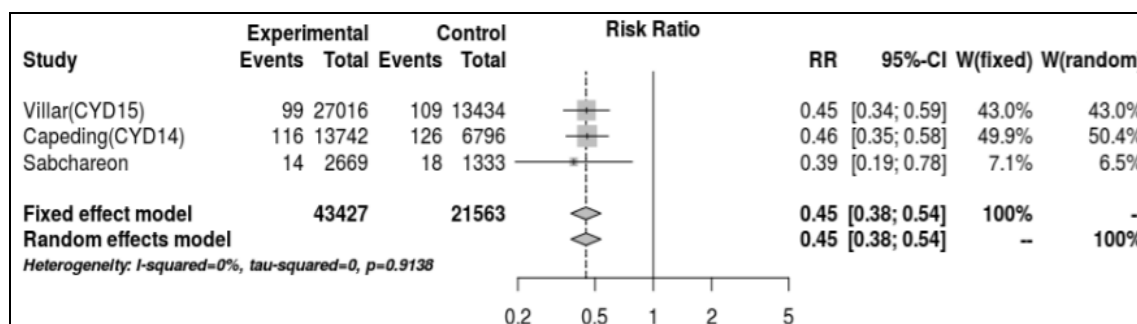


Figura 5 – Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 1

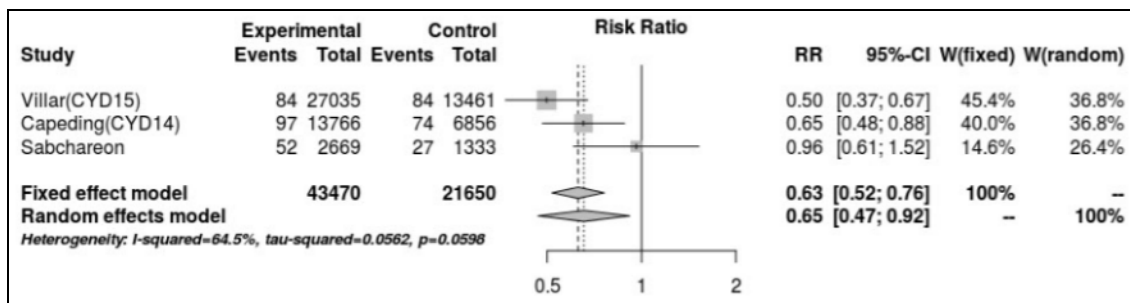


Figura 6 – Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 2

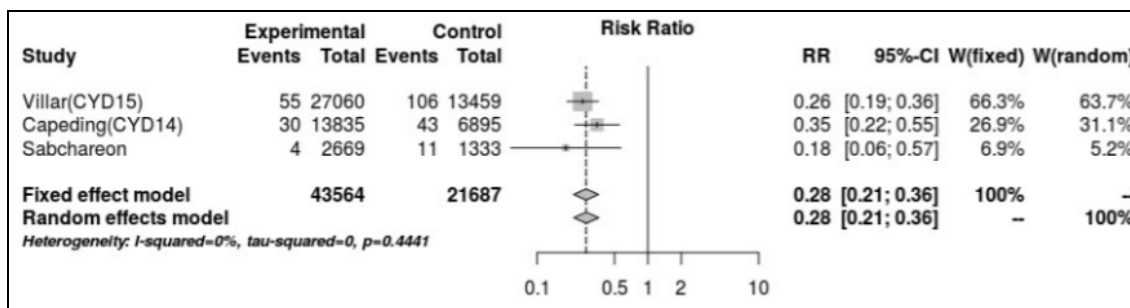


Figura 7 – Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 3

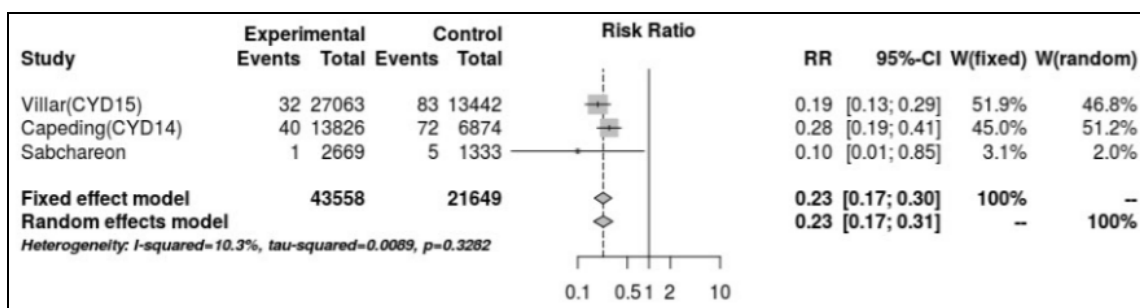


Figura 8 – Metanálise da eficácia da vacina para o sorotipo 4

Após a avaliação do efeito da soropositividade, do tipo de vírus e da idade através de meta-regressão, não encontramos uma explicação para a heterogeneidade de 80,1%. Por outro lado a metanálise estratificada mostrou pequena heterogeneidade (10,3%) para o sorotipo 4 e heterogeneidade significativa (64,5%) para o sorotipo 2, desta forma acreditamos que o efeito não uniforme da vacina na prevenção de casos sintomáticos de dengue de acordo com o sorotipo, possa ser o motivo da heterogeneidade encontrada na análise.

4.5 Impacto orçamentário

Foi realizada a análise do impacto orçamentário da vacina da dengue e da sorologia IgG para dengue, para a população brasileira entre 9 e 45 anos, estimada para o ano de 2016, conforme Tabelas 5, 6 e 7.

Tabela 5 - Projeção da população do Brasil por idade simples de 9 a 45 anos para o ano de 2016

Ano 2016				
Faixa Etária	9 a 18 anos	19 a 28 anos	29 a 38 anos	39 a 45 anos
População	33.617.727	34.086.607	34.281.025	19.978.682

Fonte: IBGE / Diretoria de Pesquisas. Coordenação de População e Indicadores Sociais. Gerência de Estudos e Análises da Dinâmica Demográfica. Projeção da população do Brasil por sexo e idade para o período de 2000-2060 [recorte]

Tabela 6 – Custo da sorologia

Quantidade	Custo unitário (R\$)	Custo Total (R\$)
121.964.041 [¥]	30,00 ^{¥¥}	3.658.921.230,00 ^{¥¥¥}

[¥] 100% da população entre 9 e 45 anos

^{¥¥} Preço unitário da sorologia IgG para dengue

^{¥¥¥} Custo total da sorologia na população de 9 a 45 anos

Tabela 7 – Impacto orçamentário

Quantidade	Custo Unitário vacina (R\$)	Custo Logística (R\$)	Custo Total
121.964.041 [*]	88,10	31,90	36.125.748.944,20 [#]
85.374.829 ^{**}	88,10	31,90	25.288.024.349,80 [#]
60.982.021 ^{***}	88,10	31,90	18.062.874.620,20 [#]
54.883.819 ^{****}	88,10	31,90	16.256.587.187,80 [#]

^{*}100% da população de 9 a 45 anos

^{**} 70% da população de 9 a 45 anos

^{***} 50% da população de 9 a 45 anos

^{****} 45% da população de 9 a 45 anos

[#]Custo total considerando as três doses da vacina mais a logística por pessoa vacinada.

E pensando em um cenário mais favorável à vacina da dengue, foi realizada a análise do impacto orçamentário, vacinando 45% da população brasileira estimada entre 9 a 45 anos para o ano de 2016, considerando o preço da vacina em R\$ 60,00 a dose, conforme tabela 8.

Tabela 8 – Impacto orçamentário no cenário mais favorável para à vacina

Quantidade	Custo Unitário vacina (R\$)	Custo Logística (R\$)	Custo Total
54.883.819 [¥]	60,00	31,90	11.629.881.246,10 [#]

[¥]45% da população de 9 a 45 anos

[#]Custo total considerando as três doses da vacina mais a logística por pessoa vacinada.

Tomando-se por base o orçamento do Ministério da Saúde (MS) do ano de 2016 (55) R\$ 118.814,8 milhões, o custo para vacinar 70%, 50% e 45% da população corresponderia respectivamente a 22%, 16% e 14% do seu orçamento para o mesmo ano. E mesmo considerando o melhor cenário o custo para vacinar corresponderia a 10% do orçamento de 2016.

5 DISCUSSÃO

Esta revisão permitiu examinar as evidências relacionadas aos desfechos primário de eficácia da vacina da dengue contra dengue sintomática, e secundário de eficácia da vacina da dengue contra cada um dos sorotipos virais. E a inclusão dos estudos de fase II, que eram estudos mais voltados à segurança e à imunogenicidade da vacina, foi opção metodológica, visando a realização da metanálise e pensando em sua aplicabilidade na população.

No caso do desfecho eficácia da vacina contra dengue sintomática, quando se analisa o conjunto dos estudos, as estimativas sinalizam uma baixa proteção e quando se analisa os estudos em separado, em quatro deles a eficácia da vacina não pôde ser comprovada. Com relação à eficácia da vacina contra cada um dos sorotipos, três dos trabalhos a analisam separadamente nas análises por intenção de tratar, e os resultados são semelhantes, mostrando eficácia elevada contra os sorotipos 3 e 4 e eficácia muito menor para os sorotipos 1 e 2, sendo notadamente menor para o sorotipo 2 em relação aos demais. Assim as estimativas globais da eficácia vacinal mostram tendência a modesta proteção e os resultados por sorotipo, relacionados aos sorotipos 1 e 2, não mostram proteção vacinal por não terem sido estatisticamente significantes. Como a randomização é garantida na análise por intenção de tratar, não consideramos as análises por protocolo, que poderiam estar enviesadas. Como o objetivo primário da vacina nos estudos é ser eficaz contra dengue virologicamente confirmada, não ter dengue entre os vacinados não quer dizer que não existiram casos de dengue, quer dizer somente que não tiveram casos de dengue sintomática. E dada a baixa eficácia da vacina, não ter tido mais casos sintomáticos ou assintomáticos entre os vacinados, deixa em dúvida se a proteção foi conferida pela vacina ou pela doença.

A eficácia da vacina da dengue foi também objeto de outra revisão sistemática e metanálise (56), cujo resultado mostrou eficácia de 59% (IC95%: 15 – 80), com um RR de 0,41 (IC 95%: 0,2 a 0,85), heterogeneidade I^2 30,9%, $p=0,2$, diferente dos nossos resultados de eficácia de 44% (IC 95%: 25 – 59), RR 0,56 (IC 0,41-0,75), com heterogeneidade I-squared 80.1%, tau-squared = 0,0945, $p < 0,000$, que pode ser devido aos seguintes atributos dos estudos: número de trabalhos, fase e quantitativo de participantes. O estudo (43) incluiu cinco estudos de fase II, com um

total de 5.230 participantes e nosso estudo incluiu sete estudos: cinco estudos fase II e dois estudos fase III, com um total de 36.371 participantes.

Ainda ao considerarmos a eficácia por sorotipo, é dado que no Brasil no ano de 2015 existia a predominância dos sorotipos virais circulantes de 93,8% e 5,1% dos sorotipos 1 e 4 respectivamente e 0,7% e 0,4% para os sorotipos 2 e 3 (11). Assim, a vacina demonstrou resultados estatisticamente não significativos para um dos sorotipos virais de circulação predominante no país em 2015, o sorotipo 1. Variações locais de prevalência de sorotipos virais e soropositividade no início e ao longo dos estudos nos diversos países envolvidos podem justificar possíveis diferenças na eficácia da vacina observada entre os estudos, quando analisada a eficácia vacinal por sorotipo.

Os estudos da Ásia mostraram maior eficácia da vacina para crianças maiores de 9 anos e eficácia baixa entre 2 e 5 anos, o que pode ser explicado pela maior soropositividade à medida que as crianças vão crescendo e adquirindo a imunidade ativa contra a doença, por viverem em áreas endêmicas e de grande circulação viral. Nos estudos na América Latina esta observação não pôde ser feita, por serem estudos com desenhos com faixas etárias de 9 anos ou mais, ficando apenas evidente a maior eficácia entre aqueles soropositivos no início dos estudos. Cabe ressaltar que, como a vacinação tem caráter preventivo, seria ideal que a vacina fosse eficaz em faixas etárias menores do que 9 anos, que a eficácia fosse independente de soropositividade prévia, e que também não houvesse interferência na eficácia entre os soronegativos com 9 anos ou mais. Assim, a revisão indicou que a vacina é eficaz em indivíduos maiores de 9 anos que tenham infecção prévia por pelo menos um dos sorotipos virais, sendo 9 anos a idade limite inferior para a comercialização da vacina no Brasil.

Os testes sorológicos e de anticorpos neutralizantes, necessários ao estudo da soroprevalência e identificação viral, devem ter seus resultados vistos com cautela, principalmente naqueles locais de circulação de outros Flavivirus, tais como, febre amarela, encefalite de St. Louis, encefalite japonesa, vírus do Nilo Ocidental e Zika, por haver reatividade cruzada sorológica entre a dengue e eles (57,58). O mesmo deve ser observado com relação à falta de padronização entre os materiais e métodos, particularmente quanto ao uso de diferentes cepas de dengue dentro de um mesmo sorotipo, entre os laboratórios de diagnóstico e de pesquisa da vacina da

dengue que usam o teste por neutralização de redução de placas (PRNT), por tornarem parciais as inferências sobre a proteção induzida pela vacina. (58)

Outro dado de relevância da vacina da dengue é o esquema vacinal proposto de três doses com intervalo de 6 meses entre elas, o que em geral leva a sua incompletude, passível de acontecer em uma intervenção com esquema de doses repetidas, com um considerável intervalo de tempo entre elas, em uma população que em muitos locais tem acesso limitado aos cuidados de saúde. Sem contar com toda logística necessária à introdução e manutenção de um esquema vacinal extenso, que inclusive idealmente deveria evitar que o meio ou o início do esquema vacinal coincida com os períodos de maior circulação viral e de maior transmissibilidade da doença.

No que tange à redução nas taxas de hospitalização e de febre hemorrágica da dengue por qualquer um dos sorotipos observadas nos estudo de fase III da Ásia e da América Latina, as mesmas devem ser vistas com cautela, nem todos os países tem os mesmos critérios de internação e em um mesmo país estes critérios podem variar de local para local, independente da gravidade pela classificação clínica da doença. No Brasil, nos municípios em que a estratégia de saúde da família está estabelecida, com o modelo assistencial ordenado pela atenção primária de saúde e as unidades de pronto atendimento – UPA funcionando como retaguarda assistencial, além do que é notificado como caso suspeito da doença, os casos que ficam nos leitos de observação, por sua tipologia, não geram Autorização de Internação Hospitalar – AIH e assim não geram números e dados de internação hospitalar por dengue. Há que considerar também o modelo usado em alguns estados e municípios dos pólos de dengue que funcionam como ponto de acolhimento, assistência e hidratação, mitigando a internação hospitalar e que também só geram dados de notificação de casos suspeitos e não de internação. Assim estes arranjos na assistência podem dificultar mensurar se o que diminui a internação é a vacina ou o ordenamento e a estrutura assistencial. Além disso, a classificação clínica da dengue usada nos estudos foi a da Organização Mundial da Saúde de 1997, que foi modificada em 2009 (31,32), data anterior ao início dos estudos, justamente pela limitação dos termos, por sua complexidade e dificuldade de aplicabilidade, sendo assim pode haver algum tipo de viés no entendimento do que previne ou não a internação e do que é ou não doença grave.

Outro dado importante é que na redução das taxas de hospitalização e de febre hemorrágica da dengue, não se conhece a soroprevalência no início dos estudos, a mesma só foi apontada em um deles (54) e, por conseguinte como isso pode ter interferido nos achados. E, ainda, o grande desafio que a doença traz aos países endêmicos são as ações de prevenção com o controle do vetor e com a assistência, notadamente nos períodos epidêmicos com o grande afluxo de pacientes às portas de entrada das unidades de emergência e a necessidade de vigilância e controle da grande transmissibilidade da doença nos domicílios pela alta circulação viral, os quais a redução da hospitalização e da febre hemorrágica da dengue não contribuirão em mitigar. Neste sentido, medidas de capacitação em serviço voltadas para o diagnóstico precoce e tratamento efetivo das formas graves da doença e de vigilância epidemiológica e controle do vetor, podem levar a redução das formas graves da doença. Há ainda a questão de como a proteção conferida no cenário de eficácia funcionará no cenário de efetividade.

No que diz respeito a reatogenicidade e imunogenicidade da vacina nos trabalhos de fase III, no estudo da América Latina (45) ocorreram cinco casos de convulsão, considerado evento adverso grave, 18 horas após a primeira injeção, e que deve ser observado, caso a vacina seja usada de forma sistemática nos países onde foi aprovada sua comercialização. E mais 4 casos eventos adversos graves, 3 no grupo vacina que incluíram asma moderada 16h após a terceira injeção, urticária alérgica 4 horas após a segunda injeção e polineuropatia periférica aguda associada a meningite viral 3 dias após a primeira injeção, no grupo controle ocorreu um caso de distúrbio visual transitório 1 dia após a primeira injeção. Ainda no mesmo estudo ocorreram 17 casos de hospitalização por dengue após a primeira dose da vacina no grupo de vacinados e 43 casos no grupo controle com uma média de hospitalização de 6 dias no grupo vacina e 4 dias no grupo controle. Além de 12 casos de dengue grave, 1 no grupo vacina e 11 no grupo controle. Ocorreram também 12 óbitos, 6 em cada grupo, no grupo vacina 4 óbitos por acidente, 1 por insuficiência respiratória nove meses após a primeira injeção e 1 por vasculite sistêmica com insuficiência renal 10 meses após a terceira injeção. Outro dado relevante relacionado à segurança da vacina, e que precisa ser melhor elucidado, é a tendência a um maior número de internações hospitalares por dengue entre os vacinados na faixa etária de 2 a 5 anos, no primeiro e no segundo ano após a primeira dose, observado no

estudo da Ásia (48), e que há improbabilidade de ser devido ao acaso. Esta tendência não pôde ser avaliada no estudo da América Latina(45), por não terem incluídos em seu desenho participantes desta faixa etária. Ainda no estudo da Ásia (48) ocorreram 28 casos de Febre Hemorrágica da Dengue, sem a graduação descrita, sendo 8 no grupo vacina e 20 no grupo controle, 4 outros casos ocorreram no grupo vacina, que apesar da gravidade não foram classificados como Febre Hemorrágica da dengue por não cumprirem com todos os critérios clínicos, mas que precisam ser melhor elucidados e explicados antes de serem descartados, uma vez que se agregados aos casos do grupo vacina aumentariam em 50% o número de casos de Febre hemorrágica da Dengue neste grupo. Ainda no mesmo estudo, 87 participantes apresentaram eventos adversos graves 28 dias após a vacinação, 54 no grupo vacina e 33 no grupo controle, sem dados sobre os mesmos disponíveis no estudo, havendo somente a descrição de um caso de encefalomielite aguda disseminada no sétimo dia após a vacinação no grupo vacina. No grupo vacina ocorreram 4 óbitos, 3 por acidente de trânsito e 1 por lesão traqueal. Nos trabalhos de fase II, no estudo do Brasil (49), no grupo vacina, ocorreu uma gestação terminada por óbito fetal intra uterino 112 dias após a segunda dose, sem mais nenhum relato no estudo, e que deve ser melhor elucidado. No estudo da América Latina (50) ocorreram 2 casos de dengue grave no grupo controle, sem outros eventos adversos graves ou óbitos. No estudo vietnamita (51) ocorreram 3 eventos adversos graves do grupo vacina, uma faringite aguda, uma gastrite aguda e uma Febre Hemorrágica da Dengue grau 1, no grupo controle 3 casos de Febre hemorrágica da Dengue, 2 grau 1 e 1 grau 2. No estudo do Peru (52) não ocorreram eventos adversos graves nem óbitos. No estudo da Tailândia (53), ocorreram 5 casos de dengue grave, 3 no grupo vacina e 2 no grupo controle e 4 óbitos de crianças no grupo controle, causados por afogamento, acidente de trânsito, linfoma de células T e traumatismo craniano.

Com relação ao Número Necessário Tratar (NNT), os valores encontrados nos estudos da Ásia e da América Latina foram 40 e 50 respectivamente, assim vacina-se toda a população para se evitar um caso de dengue em cada 40 vacinados na Ásia e em cada 50 vacinados na América Latina.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (42), a estimativa do impacto de programa de imunização contra dengue é de 80%, para tal foi usado um modelo

que assumiu que os locais tinham intervenções de controle e tratamento, esquema de três doses a partir dos nove anos de idade, intensidade de transmissão de moderada a alta com soroprevalência $\geq 50\%$ aos 9 anos de idade, com impacto ainda maior nos locais de soropositividade aos 9 anos $\geq 70\%$. Mesmo considerando este o cenário ideal, o efeito da imunização na incidência e na hospitalização por dengue, somente poderá ser sentido após um longo período de latência, que se estima superior a 30 anos após a introdução do programa de imunização (42). Assim neste cenário e sob o aspecto do impacto orçamentário, e na perspectiva de vacinar a faixa etária de 9 a 45 anos, faixa etária liberada para comercialização no país (40), vacinando 70%, 50% e 45% da população desta faixa etária, a vacina agregará um custo ao Programa Nacional de Imunização, que por si só consumiria respectivamente 22%, 16% e 14% do orçamento do Ministério da Saúde para o ano de 2016. É necessário ainda estabelecer o período de tempo necessário para interromper a transmissão da doença, variável que também deve ser agregada às análises de custo efetividade a serem futuramente realizadas.

A vacina contra a dengue acaba de ser comercializada e assim ainda não existem trabalhos em número e em tempo de seguimento suficientes para preencher lacunas ainda existentes nos estudos desta revisão, o que se espera é que novos trabalhos surjam a fim de serem agregados à metanálise aqui realizada. Ainda há que se responder questões relacionadas à segurança e eficácia a longo prazo, principalmente relacionadas a reação à dengue por vírus selvagem, naquele indivíduo previamente vacinado e a uma dengue mais grave numa segunda infecção, notadamente naqueles indivíduos vacinados que não tem resposta imunológica ao DENV2, mas que produziram anticorpos contra ele. Ademais, a esclarecer, como ficará a imunização contra dengue dos soronegativos e das faixas etárias de fora daquela dos 9 – 45 anos nos países e regiões endêmicas e epidêmicas. Há ainda a se considerar o período de pós-comercialização e todos os eventos inerentes a ele, particularmente aqueles agregados à segurança e à farmacovigilância que tende a se estender por anos. E, ainda, a mais longo prazo a efetividade da vacina contra a doença. São necessários também estudos de custo efetividade, que vão ser complexos para a vacina da dengue, por serem específicos por região e momento epidemiológico, com desenho que inclua a eficácia variável da vacina por sorotipo, os sorotipos circulantes em determinado momento

epidemiológico e a imunidade basal dos indivíduos a serem vacinados, além dos custos de logísticas inerentes à incorporação da vacina ao programa de imunização do país e à sua aplicação. (59)

A possibilidade de existir um quinto sorotipo viral da dengue DENV 5 (3-5), pode trazer um novo desafio à prevenção da dengue através de uma vacina tetravalente. Além da ameaça de um possível quinto sorotipo, no Brasil circulam duas novas arboviroses, chikungunya e Zika, o que torna o controle do vetor uma tarefa permanente em logística e custo. A Zika apesar de sua baixa letalidade, apresenta suas formas de acometimento neurológico tanto nos adultos quanto nas crianças, essas últimas com os quadros de microcefalia fetal e neonatal de comprometimento duradouro. E a chikungunya além da alta letalidade, pode apresentar formas neurológicas e apresenta formas articulares agudas graves e crônicas de comprometimento a longo prazo.

A eficácia da vacina na prevenção de dengue sintomática ainda é uma questão a ser respondida. E hoje o que se precisa é de uma vacina da dengue tetravalente, em dose única, que proteja contra os quatro sorotipos e que seja capaz de promover a proteção primária contra a doença.

Por derradeiro, os riscos subseqüente ao registro e implementação do uso da vacina, devem estar claramente definidos, e com base neles, devem ser detalhadas as medidas a serem tomadas, assegurando a identificação oportuna e adequada de quaisquer riscos associados com a vacinação incluindo os custos a eles relacionados.(59)

6 CONCLUSÃO

O resultado da metanálise desta revisão mostrou uma baixa eficácia global contra a dengue sintomática e separadamente contra os sorotipos 1 e 2, apesar da eficácia contra os sorotipos 3 e 4, com limitado impacto na prevenção primária da doença.

Com relação aos desfechos secundários apontados nos trabalhos, de prevenir casos graves e internações por dengue, muitas questões ainda devem ser respondidas antes que os mesmos possam ser substitutos à eficácia da vacina em prevenir casos sintomáticos de dengue.

Com relação aos custos, a co-circulação no Brasil, de dengue, chikungunya e Zika, não dará tréguas ao controle do vetor e à vigilância epidemiológica. E a fonte que financia esses recursos não poderia ser transferida para o custeio de uma vacina, que desembolsaria valores correspondentes a aproximadamente 14%, 16% e 22% do orçamento global do Ministério da Saúde para o ano de 2016, que só previne casos graves e internações, que é limitada a faixa etária de 9 a 45 anos e que, além disso, necessita que se tenha imunidade prévia natural contra a doença.

Sem dúvida, a fase de desenvolvimento alcançado por essa vacina da dengue trouxe esperança para o uso futuro de vacina para a prevenção primária da doença, que esperamos seja em breve.

Referências Bibliográficas

1. Torres E M. Dengue. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2005.
 2. Valle D, Pimenta D, Cunha R. Dengue Teorias e Práticas. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2015.
 3. Mamani E, Nuevo serotipo 5 del virus dengue: Necesidad de fortalecer la vigilancia molecular em Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014; 31(1):171-73.
 4. Normile D. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts. Science. 2013; 342: 415.
 5. Mustafa M S, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. Med J Armed Forces India. 2015; 71:67-70.
 6. Souza J L. Dengue Diagnóstico, Tratamento e Prevenção. 2. ed. Rio de Janeiro: Rubio; 2008.
 7. Timerman A, Nunes E, Luz K. Dengue no Brasil: Doença Urbana. São Paulo: Limay; 2012.
 8. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL et.al. The global distribution and burden of dengue. Nature;496:504-507.
 9. Brady OJ, Gething PW, Bhatt S, Messina JP, Brownstein JS, Hoen AG et al. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6:e1760. doi:10.1371/journal.pntd.0001760.
 10. World Health Organization. Media centre. Dengue and severe dengue.
 11. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim informativo. 2016;47(3). Disponível em <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dengue>>. Acessado 06/10/2016.
- Disponível em: <<http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs117/en/>>. Acessado em 26/07/2016.
12. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. Diretrizes nacionais de Prevenção e Controle da Dengue. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
 13. Murrel S, Wu S. Review of dengue virus and the development of a vaccine. Biotechnology Advances. 2011; 29: 239-47.
 14. Bravo JR, Guzmán MG, Kouri GP. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? I. Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). Trans R Soc Trop Med Hyg. 1987;81: 816-20.
 15. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, e tal. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. J Infect Dis 1997; 176:322.
 16. Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM. A prospective study of dengue infections in Bangkok. Am J Trop Med Hyg 1988; 48:172.
 17. Martina BE, Koraka P, Osterhaus AD. Dengue vírus pathogenesis: an integrated view . Clin Microbiol Rev 2009; 22:564.
 18. Pryor MJ, Carr JM, Hocking H, et al. Replication of dengue vírus type 2 in human monocyte-derived macrophages: comparisons of isolates and recombinant viruses with substitutions at amino acid 390 in the envelope glycoprotein. Am J Trop Med Hyg 2001; 65:427.

19. Cologna R, Ricco-Hesse R. American genotype structures decrease dengue virus output from human monocytes and dendritic cells. *J Virol* 2003; 77:3929.
20. Rico-Hesse R. Dengue virus evolution and virulence models. *Clin Infect Dis* 2007; 44:1462.
21. Watts DM, Porter KR, Putvatana P, et al. Failure of secondary infection with American genotype dengue 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1999; 354:1431.
22. Olkowski S, Forshey BM, Morrison AC, Rocha C, Vicarromero S, Hasley ES, et al. Reduced Risk of Disease During Postsecondary Dengue Virus Infections. *J Infect Dis*. 2013; 208:1026–33.
23. Guzman MG, Kouri G, Bravo J, Valdes L, Vazquez S. Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infection. *Int J Infect Dis*. 2002;6:118-24.
24. Kouri G, Guzmán MG, Bravo J. Hemorrhagic dengue in Cuba: history of an epidemic. *Bull Pan Am Health Organ* 1986; 20:24.
25. Guzmán MG, Kouri GP, Bravo J, et al. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 42:179.
26. Halstead SB, O'Rourke EJ. Antibody-enhanced dengue virus infection in primate leukocytes. *Nature*. 1977 Feb;265(5596):739-741.
27. Dejnirattisai W, Jumnainsong A, Onsirisakul, Fitton P, Vasanawathana S, Limpitikul W, et al. Enhancing cross-reactive anti-prM dominates the human antibody response in dengue infection. *Science*. 2010 May; 328(5979):1-12.
28. World Health Organization. Dengue, Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. France: WHO; 2009.
29. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança. 5.ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2016. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/14/dengue-manejo-adulto-crianca-5d.pdf>>. Acessado em 11/07/2016.
30. World Health Organization. Global strategy for dengue prevention and control 2012 a 2020. France: WHO; 2012.
31. Centers for Disease Control and Prevention. Clinical Description For Case Definitions. 2009 New Dengue Case Definitions. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/dengue/clinical/caseDef.html>>. Acessado em 04/04/2016.
32. Alexander N, Balmased A, Coelho N A, Dimaano E, Hiens TT, Hung N T, et al. Multicentre prospective study on dengue classification in four South-east Asian and three Latin American countries. *Trop Med Int Health*.2011 Aug; 16(8): 936-48.
33. Shepard D S, Coudeville L, Halasa Y A, Zambrano B, Dayan G H. Economic Impact of Dengue Illness in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2011; 84(2): 200–07.
34. Suaya J A, Shepard D S , Siqueira JB , Martelli C T , Lum L C S, Tan L H , et al. Cost of Dengue Cases in Eight Countries in the Americas and Asia: A Prospective Study. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2009; 80(5): 846–55.
35. Martelli C M T, Siqueira Junior J B, Parente M P P D, Zara A L S A, Oliveira C S, Braga C, et al. Economic Impact of Dengue: Multicenter Study across Four Brazilian Regions. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015 Sep; 24: 1-19.
36. Subsecretaria de Defesa Civil. Corpo de Bombeiros Militar do Estado do Rio de Janeiro. Ações de Combate ao Dengue. Rio de Janeiro: [s.n.]; 2008.

37. Coller B A G, Clements D E. Dengue vaccines: progress and challenges. *Curr Opin Immunol.* 2011; 23:391–98.
38. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes Metodológicas: elaboração de revisões sistemáticas e metanálise de ensaios clínicos randomizados. 1.ed. Brasília: Ministério da Saúde 2012. Bibliografia do acrônimo PICO.
39. Higgins JPT, Green S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions.* Version 5.0.2. The Cochrane Collaboration, 2009. Disponível em: <<http://handbook.cochrane.org/v5.0.2/>> . Acessado em 12/04/2016. Bibliografia do acrônimo PICO.
40. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência Geral de Medicamentos e Produtos Biológicos. Bases técnicas e científicas da conclusão da análise do registro do medicamento APROVADO. Vacina dengue 1, 2, 3 e 4 (recombinante, atenuada), Dengvaxia®. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/Fila_de_analise/frmResultado.asp>. Acessado em 08/03/2016.
41. Higgins JPT, Green S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions.* Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration; 2011. Disponível em: <<http://www.cochrane-handbook.org>>. Acessado em 12/08/2016.
42. World Health Organization. *Weekly epidemiological Record*;29 JULY 2016, 91th YEAR / 29 JUILLET 2016, 91^e ANNÉE No 30, 2016, 91, 349–364. Disponível em < <http://www.who.int/wer/2016/wer9130.pdf?ua=1>. Acessado em 06/09/2016.
43. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. DATASUS – Departamento de Informática do SUS. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ibge/cnv/projpopbr.def>. Acesso em 27/10/2016.
44. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos - CMED. Listas de Preços de Medicamentos. Preços de Medicamentos para Compras Públicas, atualizada em 14/04/2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/compras-publicas>>. Acesso em 27/10/2016.
45. Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e Órteses, Próteses e Materiais (OPM) do SUS–SIGTAP. Disponível em: <http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/inicio.jsp>. Acessado em 27/10/2016.
46. Ministério da saúde. Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. Relatório de recomendações 82. Vacina contra o HPV na prevenção de câncer de colo de útero. Julho de 2013.
47. Banco central Taxas de Câmbio BRA . Disponível em <http://www4.bcb.gov.br/pec/taxas/batch/taxas.asp?id=txdolar> acesso em 28/10/2016. Bibliografia para o preço do dólar.
48. Villar I, Dayan HD, Arredondo-Garcia JL, Rivera-Medina DM, Cunha R, Deseda C, et al. Efficacy of a Tetravalent Dengue Vaccine in Children in Latin America. *N Engl J Med.* 2015 Jan; 372(2): 113-123.

49. Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SRS, Ismail HIHM, Chotpitayasunondh T, Chua MN, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomized, observer-masked, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2014 Oct; 384:1358-65.
50. Dayan GH, Garbes P, Noriega F, Sadovsky ADI, Rodrigues PM, Giuberti C, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant tetravalent dengue vaccine in children and adolescents ages 9-16 years in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013;89(6):1058-65.
51. Villar LA, Medina DMR, Garcia JLA, Boaz M, Spires LS, Thakur M, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant tetravalent dengue vaccine in 9-16 years olds a randomized, controlled, phase II trial in Latin America. *Pediatr Infect Dis J.* 2013 Oct;32(10):1102-09.
52. Tran NH, Luong CQ, Vu TQH, Forrat R, Lang J, Vu QD, et al. Safety and immunogenicity of recombinant, live attenuated tetravalent dengue vaccine (CYD-TDV) in healthy vietnamese adults and children. *J Vaccines Vaccin* 2012;3:3-7.
53. Lanata CF, Andrade T, Gil AI, Terrones C, Valladolid O, Zambrano B, et al. Immunogenicity and safety of tetravalent dengue vaccine in 2-11 years-olds previously vaccinated against yellow fever: randomized, controlled, phase II study in Piura, Peru. *Vaccine* 2012; 30:5935-41.
54. Sabchareon A, Wallace D, Sirivichayakul C, Limkittikul K, Chantavanich P, Suvannadabba S, et al. Protective efficacy of the recombinant, live-attenuated, CYD tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren: a randomised, controlled phase 2b trial. *Lancet* 2012 Sept;380:1559-67.
55. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Secretaria de Orçamento Federal. Execução Orçamentária dos Orçamentos Fiscal e da Seguridade Social da União. Disponível em <http://www.orcamentofederal.gov.br/clientes/portalsof/portalsof/informacoes-orcamentarias/execucao-orcamentaria-1/publico_cgcon_execucao_orgao_uo_gnd200916.pdf>. Acessado em 11/11/2016.
56. Costa VG, Marques-Silva AC, Floriano VG, Moreli ML. Safety, immunogenicity and efficacy of a recombinant tetravalent dengue vaccine: A meta-analysis of randomized trials. *Vaccine* 2014; 32: 4885-92.
57. Centers for Disease Control and Prevention. Divisão de doenças transmitidas por vetores. Memorando Testes de diagnóstico revisados para os vírus que causam zika, chikungunya e dengue em laboratórios de saúde pública dos EUA.. Disponível em: https://portugues.cdc.gov/img/cdc/PT_47900.pdf. Acessado em 20/10/2016.
58. Rainwater-Lovett K, Rodriguez-Barraquer I, Derek AT Cummings D AT, Lessler J. Variation in dengue virus plaque reduction neutralization testing: systematic review and pooled analysis. *BMC Infectious Diseases*. 2012; 12:233 - 47.
59. Hernández-Ávila M, Santos-Preciado J I. Análisis de la evidencia sobre eficacia y seguridad de la vacuna de dengue CYD-TDV y su potencial registro e implementación en el Programa de Vacunación Universal de México. *Salud Pública de México*. 2016; 58 (1): 71-83.