

Limitações da vacina BCG e novas estratégias profiláticas contra tuberculose humana

Limitations of the BCG vaccine and new prophylaxis strategies against human tuberculosis

Arioldo Carvalho Vasconcelos-Junior¹, João Alves de Araújo-Filho², Ediane Batista da Silva³,
Eduardo Martins de Sousa⁴, André Kipnis⁵, Ana Paula Junqueira-Kipnis⁶

RESUMO

A atual vacina contra a tuberculose, o BCG (Bacilo Calmette Guérin), uma vacina atenuada, derivada do *Mycobacterium bovis*, apesar de proteger as crianças contra a enfermidade, falha na proteção contra a tuberculose pulmonar ativa em adultos, principalmente em países onde a doença é endêmica. Uma nova vacina para tuberculose deve proteger várias categorias de indivíduos, como crianças, adultos, idosos e imunocomprometidos. Sendo assim, uma característica importante a se considerar é a seguridade vacinal para todas as classes de imunizados. Esta revisão propõe apresentar as novas estratégias de vacinação, tais como subunidades vacinais, vacinas de DNA, vacinas com micro-organismos e vetores vivos e discutir as aplicações dessas novas estratégias no controle e erradicação da tuberculose.

Descritores: Tuberculose/prevenção & controle; BCG/uso terapêutico; Vacinas de DNA/uso terapêutico; Vacinas de subunidades/administração & dosagem; Vacinas de DNA/administração & dosagem; Vacinas contra a tuberculose; Proteínas recombinantes/imunologia

ABSTRACT

BCG (Bacille Calmette Guérin), an attenuated vaccine derived from *Mycobacterium bovis*, is the current vaccine against tuberculosis. Notwithstanding its protection of children, BCG has failed to protect adults against active pulmonary tuberculosis, especially in countries where the disease is endemic. Any new tuberculosis vaccine should protect several categories of people, including children, adults, the elderly and immunodepressed patients. An important feature is immunization safety for all of these classes. The aim of this review is to describe new vaccination strategies, such as subunit vaccines, DNA vaccines, vaccines with live microorganisms and vectors, and to discuss the application of these new strategies for the control and eradication of tuberculosis.

Keywords: Tuberculosis/prevention & control; BCG/therapeutic use; Vaccines, DNA/therapeutic use; Vaccines, DNA/administration & dosage; Vaccines, subunit/administration & dosage; Tuberculosis vaccines; Recombinant proteins/immunology

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) permanece como um dos maiores problemas de Saúde Pública mundial, situando-se entre as principais causas de óbito em países pobres e em desenvolvimento, especialmente na África subsaariana, onde é uma epidemia associada à coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV)^(1,2). Estima-se que um terço da população mundial esteja infectada com o *Mycobacterium tuberculosis*, e que ocorram cerca de 8 a 9 milhões de casos novos de TB ao ano, bem como cerca de 1 a 2 milhões de óbitos anuais causados pela TB⁽²⁾.

O *M. tuberculosis* é transmitido de pessoa a pessoa, a partir de um indivíduo portador de TB respiratória bacilífera (pulmonar e/ou laringea) e por meio da via respiratória (tosse, espirro, fala, canto e respiração). As partículas infectadas são chamadas de gotículas de Flügge e, quando ressecadas, são chamadas de núcleos de Wells (contendo não mais que três bacilos). Após debelar as barreiras de defesa do trato respiratório, como, por exemplo, pelos nasais, muco e batimento ciliar, os núcleos de Wells alcançam os alvéolos, local onde serão fagocitados pelos macrófagos alveolares. Se o *M. tuberculosis* sobrevive, ocorre multiplicação intracelular dos bacilos nos macrófagos. Após a morte celular, os bacilos liberados infectam outros macrófagos e continuam

¹ Pós-graduando (Doutorado) em Medicina Tropical e Saúde Pública do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública do Departamento de Imunologia, Patologia, Parasitologia e Bacteriologia da Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia (GO), Brasil.

² Doutor em Medicina Tropical pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública do Departamento de Imunologia, Patologia, Parasitologia e Bacteriologia da Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia (GO), Brasil.

³ Doutora em Ciência Animal pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia (GO), Brasil.

⁴ Mestre em Medicina Tropical pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública do Departamento de Imunologia, Patologia, Parasitologia e Bacteriologia da Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia (GO), Brasil.

⁵ Doutor, Professor do Departamento de Imunologia, Patologia, Parasitologia e Bacteriologia da Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia (GO), Brasil.

⁶ Doutora, Professora do Departamento de Imunologia, Patologia, Parasitologia e Bacteriologia da Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia (GO), Brasil.

Autor correspondente: Ana Paula Junqueira-Kipnis – Rua Delenda Rezende de Melo, s/n – Setor Universitário – CEP 74605-050 – Goiânia (GO), Brasil – Tel.: (62) 3209-6126 – e-mail: anapaula@iptsp.ufg.br

Data de submissão: 12/5/2009 – Data de aceite: 30/7/2009

sua multiplicação, levando a uma alta quantidade de bactérias nas lesões pulmonares primárias. Os bacilos, por meio da via linfática, podem se disseminar para os linfonodos regionais, formando o complexo primário de Ranke, composto pelo granuloma no local de inoculação (nódulo de Gohn), pela linfangite e pelos linfonodos regionais aumentados de tamanho. Dos linfonodos do complexo primário, os bacilos podem chegar a linfonodos traqueais e vertebrais. Via ducto torácico, os bacilos podem atingir a corrente sanguínea, espalhando-se para porções superiores dos pulmões ou diferentes órgãos⁽³⁻⁶⁾. Em aproximadamente 95% dos indivíduos adultos, a infecção primária é contida, permanecendo os bacilos em estado de latência (com nenhuma ou baixa atividade metabólica), o que coincide com o desenvolvimento de hipersensibilidade ao bacilo e positividade do teste tuberculínico intradérmico (PPD). Os indivíduos portadores de infecção latente pelo *M. tuberculosis* possuem o risco de desenvolvimento de TB ativa durante suas vidas de cerca de 5%, sendo o maior risco nos dois primeiros anos após a infecção⁽³⁻⁶⁾.

A infecção pelo HIV (ou síndrome da imunodeficiência adquirida, AIDS) está relacionada ao maior risco de adoecimento pela TB (risco anual de 7 a 10% nos indivíduos coinfectados pelo HIV/*M. tuberculosis*), e é responsável por grande parcela de casos de TB na qual as duas epidemias se associam, principalmente na África subsaariana, constituindo uma barreira contra o controle da TB⁽¹⁾.

Vários países não possuem recursos necessários para implantação de rede diagnóstica, para o suprimento adequado de medicamentos anti-TB ou, ainda, para adotar a estratégia de tratamento diretamente observado (DOT)⁽²⁾. Além disso, as estratégias atuais de controle não abordam o imenso reservatório de indivíduos com infecção latente pelo *M. tuberculosis*^(2,7).

Portando, diante do exposto, o desenvolvimento de novas vacinas contra a TB (profiláticas ou terapêuticas) constituiria um dos maiores avanços na luta global contra o flagelo da tuberculose⁽⁸⁻¹⁰⁾.

A VACINA BCG

A vacina BCG (Bacille Calmette-Guérin) é a única disponível para prevenção da TB em humanos. Foi desenvolvida na França, entre 1908 e 1921, por Albert Calmette (1863-1933) e Camille Guérin (1872-1961), após 230 passagens seriadas em laboratório de uma cepa patogênica do *Mycobacterium bovis*. Esta cepa atenuada, chamada Bacille Calmette-Guérin (BCG), mostrou-se avirulenta em bovinos, cavalos, coelhos e cobaias. Em 1921, a vacina, então recentemente desenvolvida, foi administrada em crianças francesas, resultando na diminuição da mortalidade em aproximadamente 90%. A partir daí, a BCG se tornou uma das vacinas mais usadas em todo o

mundo. Acredita-se que cerca de três bilhões de doses tenham sido utilizadas desde 1921. Aproximadamente 115 milhões de doses são utilizadas anualmente, o que abrange cerca de 80% das crianças do mundo^(8-9,11).

Desde o primeiro uso do BCG, em 1921, vários laboratórios em todo o mundo têm subcultivado o BCG, levando ao aparecimento de diferentes variantes. As vacinas BCG são subdivididas em dois grupos principais: BCG Tóquio, Moreau, Rússia e Suécia, os quais secretam grande quantidade do gene MPB70, possuem duas cópias de inserção da sequência IS6110, e contêm os genes MPB64 e metoximicolato. O grupo BCG Pasteur, Copenhagen, Glaxo e Tice que secreta pouco MPB70, possui uma cópia única da inserção IS6110 e não contém os genes MPB64 e metoximicolato. Análises genômicas comparativas entre o BCG e o *M. bovis*, bem como entre as diversas cepas, revelaram que o BCG perdeu mais de 100 genes em comparação ao *M. bovis*. Muito provavelmente, essa diversidade gênica das cepas de BCG levou à diferença fenotípica e imunológica que pode ser uma das explicações para as variações na eficácia dos BCG⁽¹¹⁾.

Apesar de ser uma vacina barata e amplamente usada, sua eficácia se mostrou muito heterogênea nos diversos ensaios clínicos realizados, variando de 0 a 80%. Muitos fatores têm sido relacionados a esta discrepância do efeito protetor dos BCG: a) diferenças metodológicas nos diversos ensaios clínicos; b) diferenças genéticas entre as diversas populações estudadas; c) vários níveis de desnutrição entre os indivíduos vacinados; d) variações na virulência das diversas cepas do *M. tuberculosis*; e) efeitos da exposição à micobactérias do ambiente na resposta imune ao BCG e f) diferentes níveis de proteção contra as diferentes formas clínicas de TB^(8-9,11-12).

Apesar da discrepância na eficácia dos BCG contra a TB pulmonar, permanece consolidado que elas protegem as crianças contra formas clínicas graves da TB, isto é, contra a meningite tuberculosa e a TB miliar. Recente metanálise⁽¹³⁾ estimou que as 100,5 milhões de doses de BCG aplicadas em crianças, em 2002, preveniram 29.729 casos de meningite tuberculosa (IC95%: 24.063 - 36.196) em crianças durante seus primeiros cinco anos de vida, um caso para cada 3.435 vacinações (2.771 - 4.177), e 11.486 casos de TB miliar (7.304 - 16.280), ou um caso para 9.314 vacinações (6.172 - 13.729). Contudo, a maioria dos estudos relata que a duração do efeito protetor dos BCG não persiste por mais de 10 a 20 anos⁽⁸⁾.

No Brasil, o BCG começou a ser utilizado por via oral em 1927 por Arlindo de Assis, com a vacina produzida por ele na Liga Brasileira contra a Tuberculose, a partir da cepa Moreau, que passou a ser denominada BCG Moreau – Rio de Janeiro. Somente em 1968, o Brasil passou a utilizar o BCG intradérmico^(12,14). Em estudo realizado em Manaus e Salvador, observou-se que a vacinação neonatal com o BCG protege contra a

TB por 15 a 20 anos (39%; IC95%: 9 - 58)⁽¹⁵⁾. Um estudo caso-controle realizado na região metropolitana de São Paulo demonstrou eficácia do BCG de até 84,5% na proteção contra a meningite tuberculosa⁽¹⁶⁾.

Recomenda-se vacinar no Brasil: a) os recém-nascidos que tenham peso igual ou superior a 2 kg e não apresentem intercorrências clínicas; b) recém-nascidos filhos de mães com AIDS; c) crianças soropositivas para o HIV ou filhos de mães com AIDS, desde que sejam tuberculino-negativas e assintomáticos; d) contatos de doentes de hanseníase; e) profissionais da saúde que sejam negativos à tuberculina (profissionais atuando em serviços de atendimento a hansenianos seguem as recomendações de contatos de doentes de hanseníase); e) pessoas admitidas no serviço militar não-reatores à tuberculina e f) toda população indígena que não apresente cicatriz vacinal^(12,17-18). Espera-se que nos próximos anos o Ministério da Saúde reveja as recomendações para a vacinação BCG para os profissionais da saúde⁽¹²⁾.

NOVAS VACINAS

Considerando a baixa eficácia da BCG na proteção da tuberculose pulmonar em adolescentes e adultos, há necessidade de uma nova vacina contra a tuberculose, especialmente nos países onde a prevalência da enfermidade é elevada.

As vacinas compostas de micro-organismos vivos são alternativas em potencial, pois induzem resposta imunológica celular e humoral. Além disso, não necessitam de adição de adjuvantes, pois os próprios componentes da bactéria promovem esse papel. No entanto, elas oferecem alguns riscos, como reversão de virulência ou possível indução de doença mediante situações de imunossupressão⁽¹⁹⁾.

A vantagem de vacinas atenuadas utilizando *M. tuberculosis* é aumentar a sua imunogenicidade, uma vez que centenas de genes foram perdidos durante as sucessivas passagens, em condições laboratoriais, dos bacilos *M. bovis*-BCG⁽²⁰⁾. A título de exemplo, pode-se citar a região RD1 do *Mycobacterium tuberculosis*, que está provavelmente associado à produção de proteínas citotóxicas⁽²¹⁾.

Muitos estudos têm sido realizados utilizando-se cepas atenuadas de *M. tuberculosis*, dentre eles o *M. tuberculosis pho*, construído com uma simples ruptura do gene *pho*. O produto desse gene faz parte de um complexo de proteínas que possibilita ao micro-organismo sua sobrevivência a diferentes estímulos externos. A cepa *phoP* mutante demonstra multiplicação reduzida quando cultivada em macrófagos derivados da medula óssea de camundongos. A mutação não afeta a sobrevivência do bacilo no interior de macrófagos, apesar de o gene ser requerido para o crescimento intracelular do *M. tuberculosis*⁽²²⁾. Recentemente, um *M. tuberculo-*

sis mutante com defeito em um lipídeo micobacteriano (*Mtb drrC*) mostrou ser mais protetor que a BCG quando administrado em camundongos⁽²³⁾.

Estudos para modificar o *M. bovis* do BCG ou o *M. tuberculosis* por tecnologia do DNA recombinante a fim de produzir uma nova vacina atenuada contra a tuberculose também foram avaliados⁽²⁴⁾. Usando o mesmo raciocínio, uma cepa mutante de SO2 de *M. tuberculosis* foi testada em cobaias, apresentando proteção satisfatória, ao avaliar a sobrevivência e redução da severidade da doença, comparada à proteção oferecida pelo BCG.

A segurança da BCG é uma preocupação crescente em função da infecção por HIV. Para prevenir os potentes efeitos adversos da BCG em indivíduos imunocomprometidos, têm sido desenvolvidos auxotrófos que são micro-organismos que requerem uma fonte exógena de fatores de crescimento devido à sua incapacidade de sintetizá-los. Os resultados mostram que essas cepas são seguras em camundongos com imunodeficiência severa combinada e demonstram a mesma quantidade de proteção nos camundongos normais suscetíveis à tuberculose, o que sugere que esse poderia ser um método mais seguro de vacinação⁽²⁴⁾. Derrick⁽²⁵⁾ trabalhou com *M. tuberculosis* mutante (mc²6030), que possui replicação limitada, e testou em camundongo normal e imunocomprometido. Adicionalmente, ao se realizar a depleção de TCD8⁺, bem como de NK1.1 e de TCR $\gamma\delta$, observou-se pouco efeito na proteção induzida pela vacinação, sugerindo que as células duplo-negativas foram responsáveis pela proteção induzida pela vacina. Além disso, observou-se que essas células são dependentes de MHC II e são secretoras de INF- γ , porém em quantidade menor do que as TCD8⁺. A atenuação da virulência do bacilo *M. tuberculosis* foi também estudada por Henao-Tamayo⁽²⁶⁾, retirando a lipoproteína Rv3763 do bacilo da tuberculose. A proteção contra a tuberculose foi similar entre os animais que receberam o *M. tuberculosis* mutante e o BCG, bem como a ativação de células CD4 e CD8 que secretam IFN- γ , o que indica que apesar da atenuação do micro-organismo mutado, foram preservadas as suas propriedades vacinogênicas.

A possibilidade de usar vacinas de DNA é uma alternativa arriscada, pois elas são construídas para codificar vários antígenos, os quais são selecionados para que não interfiram nas provas de sensibilidade cutânea. A seleção do antígeno usado nas vacinas de DNA é limitada pela imunogenicidade da proteína que será expressa. Várias vacinas de DNA contendo plasmídeo com genes de antígenos micobacterianos como os membros das micolil-transferase (complexo 85)⁽²⁷⁾ e proteínas do choque térmico (Hsp60, 65, 70)⁽²⁸⁻³¹⁾, têm sido testadas em modelos animais contra a tuberculose.

Okada⁽³²⁾, trabalhando com vacinas de DNA e combinando a proteína de choque térmico 65 (HSP-65) e IL-12, utilizando como vetor vírus hemaglutinante do

Japão (HVJ), aumentou a eficácia da terapêutica bem como a expressão de células T CD8+ e CD4+ em modelo murino desafiados com MDR-TB. Estendendo ainda o estudo para modelo SIMEO, esta vacina exerce proteção efetiva (sobrevivência e resposta imune), o que indica que esta vacina de DNA pode ser usada contra *M. tuberculosis*, incluindo MDR-TB.

Os antígenos Ag85 – 85A, 85B e 85C – antígeno PstS-1, proteínas de choque térmico hsp65 e 70 e ESAT-6 são os principais candidatos à construção de vacina DNA contra a tuberculose⁽³³⁻³⁴⁾. Esses antígenos têm capacidade elevada de induzir altos níveis de resposta imune, mobilizando todo o sistema celular, CD4 - CD8, Th1, Th2, macrófagos, células monocitárias em geral, com produção de citocinas mais atuantes, entre elas, o interferon gama e o fator de necrose tumoral alfa. Camundongos que receberam vacina de DNA demonstraram essa mobilização celular e adquiriram significativa proteção antituberculosa⁽³⁴⁾. Paula⁽³⁵⁾ aperfeiçoou a vacina de DNA, coencapsulando DNAhsp65 e o adjuvante trealose dimicolato (TDM) em esferas biodegradáveis para que a vacina fosse administrada em uma única dose. Os autores realizaram os testes em camundongos e em cobaias, observando boa eficácia e diminuição da patologia pulmonar em ambos os tipos de animais.

As proteínas CFP-10 (Rv3874), GroES (Rv3418c) e complexo 85 são muito usadas como antígenos recombinantes devido à sua elevada capacidade de induzir a ativação de células T. Esses antígenos foram similares ao induzir uma resposta Th1 protetora em camundongos, sugerindo que nenhum deles são imunodominantes^(36,24). Também o ESAT-6 (Rv3875) com peso molecular de 6-KDa, (do inglês early secretory antigenic target 6) caracterizado por Sorensen⁽³⁷⁾, uma proteína codificada na região RD-1 (do inglês regions of difference)⁽³⁸⁾ de várias espécies do complexo *M. tuberculosis*, exceto nos subtipos do *M bovis* BCG, tem sido muito utilizada^(37,39-40). Em animais infectados com *M. tuberculosis*, tratados e reinfectados, observou-se uma forte resposta de células T ao ESAT-6, sugerindo que esta proteína também é imunogênica^(24,41-42). Este fato foi confirmado quando Brandt⁽⁴³⁾ avaliou o potencial do ESAT-6 em modelo vacinal, demonstrando que a vacinação com este antígeno induz resposta de célula T e proteção semelhante à obtida com o BCG. Rigano⁽⁴⁴⁾, utilizando plantas transgênicas (*Arabidopsis thaliana*) para expressarem uma proteína de fusão contendo o antígeno ESAT-6 do *M. tuberculosis* e uma enterotoxina (LTB) da *Escherichia coli* (LTB-ESAT-6), elaborou ração para camundongos e os imunizou por via oral. Após o desafio com *M. tuberculosis*, apesar do aumento na produção de IFN- γ pelas células T CD4+ dos linfonodos mesentéricos, não se observou uma boa proteção. Estes resultados sugerem que não basta ser imunogênica, pois a via de administração de uma vacina é crucial na determinação da proteção.

ESTRATÉGIAS DE VACINAÇÃO PARA NOVAS VACINAS CONTRA A TUBERCULOSE

Qualquer nova vacina contra a TB, após se mostrar eficaz em modelos animais, terá necessariamente de passar por várias etapas de ensaios clínicos antes de serem disponibilizadas para uso pelos programas de imunização mundo afora.

Antes de se iniciarem os ensaios clínicos, os perfis do produto (vacina) têm que ser definidos claramente. Por exemplo, grupos alvo do produto: recém-nascidos, crianças, adolescentes, adultos, não infectados, infectados, imunocompetentes, imunossuprimidos, etc. Categoria de proteção: proteção contra a infecção, proteção contra TB pulmonar, contra doença disseminada, etc. Segurança: mais ou menos seguro que o BCG. Doses e regimes vacinais: uma dose ao nascer com reforço na infância e adolescência⁽⁴⁵⁻⁴⁶⁾.

A barreira inicial após os testes em animais de laboratório são os testes de segurança em humanos (ensaios clínicos de fase I). Estes testes requerem inicialmente um pequeno número de indivíduos adultos saudáveis, tuberculino-negativos, e são realizados no país de desenvolvimento da vacina. Ensaios de fase I adicionais podem ser realizados em indivíduos tuberculino-positivos, em crianças ou em outros grupos para os quais as vacinas possam ser indicadas. Ensaios de fase II devem ser realizados nas vacinas candidatas aprovadas nos ensaios clínicos de fase I. Os ensaios de fase II envolvem a coleta de amostras clínicas para medir a resposta imunológica à vacina (imunogenicidade). As vacinas aprovadas nos ensaios de fase I e II (segurança e imunogenicidade) terão de ser testadas em ensaios de fase III para verificar se protegem as populações alvo contra a TB, como definido no perfil da vacina (eficácia)^(45,47).

Ensaios de fase I e II são relativamente pequenos e baratos e, geralmente, realizados pelos responsáveis pelo desenvolvimento da vacina. Os ensaios de fase III (eficácia), contudo, deverão ser grandes, complexos e caros, necessitando a parceria de múltiplas organizações internacionais públicas e privadas. A complexidade de tais ensaios pode ser vista com o exemplo a seguir: para se testar uma nova vacina como imunógeno primário – priming vaccines/vacinas profiláticas – (por exemplo, um BCG recombinante ou um *M. tuberculosis* atenuado), esta vacina deverá ser usada em indivíduos não infectados (*náive*), que será comparado a um grupo placebo ou grupo não vacinado. O efeito dessa vacina profilática na prevenção da TB pulmonar em adultos somente poderia ser detectado após décadas, uma vez que a TB é uma doença de evolução crônica. Esse tipo de ensaio deve ter 100 mil participantes ou mais, uma perspectiva desestimulante para qualquer sistema de saúde ou fabricante de vacinas^(9,45,47).

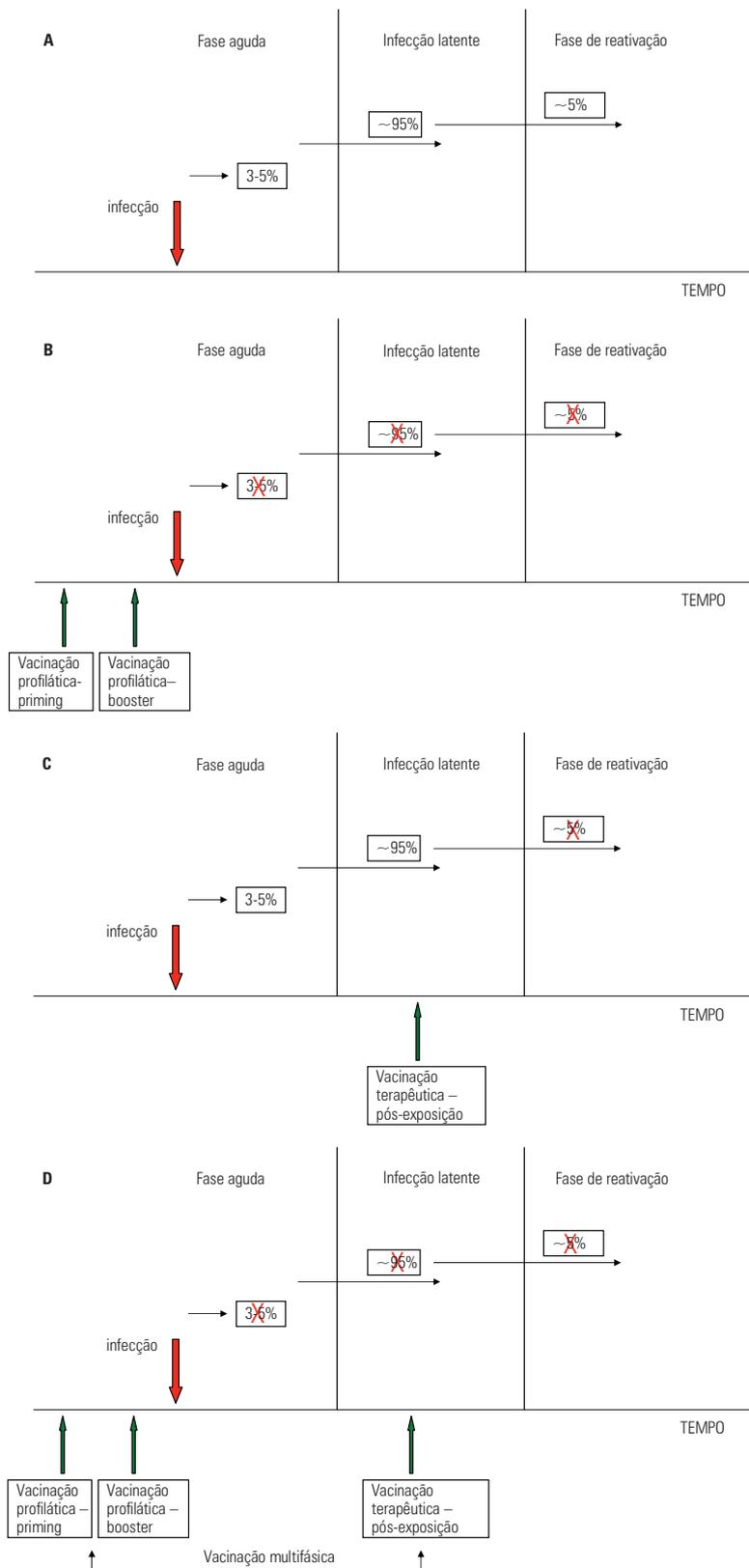


Figura 1. (A) Evolução natural da infecção pelo *M. tuberculosis*. De 3 a 5% dos indivíduos infectados desenvolverão manifestações clínicas de TB primária e cerca de 95% permanecerão assintomáticos, albergando os bacilos em seus organismos, tornando-se portadores de infecção latente pelo *M. tuberculosis* (ILMTB). 5% dos indivíduos portadores de ILMTB desenvolverão TB secundária. (B) O efeito desejado de uma vacina profilática contra a TB seria evitar a infecção pelo *M. tuberculosis* e, conseqüentemente, o desenvolvimento posterior de TB em suas diversas formas clínicas. Estas vacinas teriam de ser administradas precocemente, logo após o nascimento, em dose única, ou preferencialmente com uma primeira dose imunizante e dose subsequente de reforço. (C) Uma vacina terapêutica (pós-exposição) seria administrada após o estabelecimento da infecção pelo *M. tuberculosis* e teria o papel de evitar o adoecimento dos portadores de ILMTB. (D) Um esquema de vacinação contra a TB potencialmente útil em países endêmicos envolveria a utilização de uma vacina profilática, evitando a infecção dos indivíduos susceptíveis e a utilização de uma vacina terapêutica que evitaria o adoecimento dos indivíduos portadores de ILMTB (vacinação multifásica).

Uma estratégia mais rápida seria comparar a eficácia dessas vacinas profiláticas ao BCG padrão, examinando seu efeito na TB da infância. Apesar desse estudo necessitar de um grande número de participantes, poderia ser completado em poucos anos⁽⁴⁵⁾.

As novas vacinas contra a TB serão muito úteis nos países com grande incidência e prevalência da TB, e justamente aqueles com grande cobertura vacinal com o BCG. Ou seja, as novas vacinas contra a TB terão de ser testadas necessariamente nesse contexto. Com base no fato de que poucas vacinas novas usadas isoladamente em animais de laboratório resultam em proteções superiores ao BCG, vários grupos de pesquisa adotaram a estratégia de vacinação inicial (profilática) seguida de vacinação de reforço (desafio), ou seja, estratégia *priming-boost* (profilaxia-desafio). Esse modelo consistiria em reforçar (*boost*) a imunidade existente induzida pelo BCG com uma nova vacina (de proteína/peptídeo ou vetor atenuada, por exemplo)^(8-9,45,47).

As citadas estratégias são exemplos de vacinação profilática, isto é, vacinação com o objetivo de evitar a infecção pelo *M. tuberculosis*. Para o controle mundial da TB, seria interessante o desenvolvimento de uma vacina terapêutica (ou pós-exposição); uma vacina para ser administrada a indivíduos com infecção latente pelo *M. tuberculosis* (ILMTB), cerca de um terço da população mundial, e que impedisse sua progressão para TB doença. Não está plenamente estabelecido se as vacinas profiláticas atualmente em desenvolvimento seriam eficazes, ou mesmo seguras, em indivíduos com ILMTB. O questionamento referente à segurança se deve à possibilidade da indução do fenômeno de *Koch* por uma vacina em indivíduos com ILMTB. Robert Koch observou que cobaias inoculadas com bacilos íntegros ou com filtrado de cultura, quatro a seis semanas após estabelecimento da infecção, resultava em necrose no sítio de inoculação e no local original da infecção tuberculosa. A própria inoculação do PPD em pacientes com TB ativa pode levar à reação necrótica no sítio de inoculação. Os poucos dados disponíveis provenientes de modelos experimentais não sugerem que os principais candidatos a vacinas induziriam ao fenômeno de Koch, assim como não sugerem que tenham efeito contra a fase latente da infecção. Sabe-se que o *M. tuberculosis* durante uma infecção ativa possui expressão gênica diferente da existente na fase latente, e que a resposta imune em indivíduos saudáveis com ILMTB é dirigida contra diferentes antígenos expressos na infecção ativa. Portanto, uma vacina terapêutica deveria conter antígenos superexpressos na fase latente, como, por exemplo, HspX (α -cristalina) ou produtos dos genes *rfp* (resuscitation-promoting factor). Portanto, uma vacina pós-exposição (terapêutica) ainda é uma perspectiva mais remota que novas vacinas profiláticas para a TB^(8-10,46).

A Figura 1 resume as possíveis estratégias vacinais para as novas vacinas contra a TB.

Com várias vacinas em fase I e II de estudo, e com otimismo, acredita-se que em 2015, aproximadamente, poderá existir uma ou mais novas vacinas contra a TB aprovadas e distribuídas, contribuindo de maneira efetiva para o controle da TB⁽⁴⁷⁾.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de a eficácia da BCG ser muito discutida, principalmente pelo fato de não proteger indivíduos adultos da tuberculose pulmonar ativa, essa vacina continua sendo a única que protege crianças contra tuberculose.

As vacinas de subunidades possuem vantagens sobre as vacinas micobacterianas vivas em termos de segurança e controle de qualidade, por isso são boas candidatas para melhorar o efeito do BCG.

Existem muitas candidatas a vacinas em testes laboratoriais, mas acredita-se que poucas cheguem realmente a ser usadas clinicamente.

REFERÊNCIAS

- Maartens G, Wilkinson RJ. Tuberculosis. *Lancet*. 2007;370(9604):2030-43.
- World Health Organization. WHO report 2007: global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva: World Health Organization; 2007.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2004. Tuberculosis; p. 2852-83.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2004. Mycobacterium tuberculosis; p. 2576-607.
- Hussain T. Leprosy and tuberculosis: an insight-review. *Crit Rev Microbiol*. 2007;33(1):15-66.
- Palomino JC, Leão SC, Ritacco V, editors. Tuberculosis 2007: from basic science to patient care. [place unknown]: Institute of Tropical Medicine Antwerp; 2007. Tuberculosis in adults; p. 487-519.
- Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med*. 2002;347(23):1860-6.
- Doherty TM, Andersen P. Vaccines for tuberculosis: novel concepts and recent progress. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(4):687-702.
- Skeiky YA, Sadoff JC. Advances in tuberculosis vaccine strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2006;4(6):469-76.
- Wiker HG, Mustafa T, Malen H, Riise AM. Vaccine approaches to prevent tuberculosis. *Scand J Immunol*. 2006;64(3):243-50.
- Palomino JC, Leão SC, Ritacco V, editors. Tuberculosis 2007 from basic science to patient care. [place unknown]: BourcillierKamps, New vaccines against tuberculosis; 2007. p. 341-59.
- Barreto ML, Pereira SM, Ferreira AA. BCG vaccine: efficacy and indications for vaccination and revaccination. *J Pediatr*. 2006;82(3 Suppl):S45-54.
- Trunz BB, Fine P, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet*. 2006;367(9517):1173-80.
- Barreto ML, Cunha SS, Pereira SM, Genser B, Hijjar MA, Ichihara MY, et al. Neonatal BCG protection against tuberculosis lasts for 20 years in Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;9(10):1171-3.

15. Wunsch Filho V, de Castilho EA, Rodrigues LC, Huttly SR. Effectiveness of BCG vaccination against tuberculous meningitis: a case-control study in São Paulo, Brazil. *Bull World Health Organ.* 1990;68(1):69-74.
16. Fine M. BCG: the challenge continues. *Scand J Infect Dis.* 2001;33(4):243-5.
17. Gilio AE, coordenador. Manual de imunizações: centro de imunizações Hospital Israelita Albert Einstein. 3a ed. São Paulo: Office; 2006.
18. Alpar HO, Papanicolaou I, Bramwell VW. Strategies for DNA vaccine delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2005;2(5):829-42.
19. Camacho LR, Ensergueix D, Perez E, Gicquel B, Guilhot C. Identification of a virulence gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* by signature-tagged transposon mutagenesis. *Mol Microbiol.* 1999;34(2):257-67.
20. Junqueira-Kipnis AP, Basaraba RJ, Gruppo V, Palanisamy G, Turner OC, Hsu T, et al. *Mycobacteria* lacking the RD1 region do not induce necrosis in the lungs of mice lacking interferon-gamma. *Immunology.* 2006;119(2):224-31.
21. Pérez E, Samper S, Bordas Y, Guilhot C, Gicquel B, Martín C. An essential role for *phoP* in *Mycobacterium tuberculosis* virulence. *Mol Microbiol.* 2001;41(1):179-87.
22. Pinto R, Saunders BM, Camacho LR, Britton WJ, Gicquel B, Triccas JA. *Mycobacterium tuberculosis* defective in phthiocerol dimycocerosate translocation provides greater protective immunity against tuberculosis than the existing bacille Calmette-Guérin vaccine. *J Infect Dis.* 2004;189(1):105-12.
23. Bloom B, editor. Vaccination the control of tuberculosis. Washington (DC): American Society for Microbiology; 1994. Tuberculosis. p. 263-79.
24. Derrick SC, Evering TH, Sambandamurthy VK, Jalapathy KV, Hsu T, Chen B, et al. Characterization of the protective T-cell response generated in CD4-deficient mice by a live attenuated *Mycobacterium tuberculosis* vaccine. *Immunology.* 2007;120(2):192-206.
25. Henaó-Tamayo M, Junqueira-Kipnis AP, Ordway D, Gonzales-Juarrero M, Stewart GR, Young DB, et al. A mutant of *Mycobacterium tuberculosis* lacking the 19-kDa lipoprotein Rv3763 is highly attenuated in vivo but retains potent vaccinogenic properties. *Vaccine.* 2007;25(41):7153-9.
26. Huygen K. DNA vaccines: application to tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1998;2(12):971-8.
27. Lowrie DB, Silva CL. Enhancement of immunocompetence in tuberculosis by DNA vaccination. *Vaccine.* 2000;18(16):1712-6.
28. Ferraz JC, Stavropoulos E, Yang M, Coade S, Espitia C, Lowrie DB, et al. A heterologous DNA priming-*Mycobacterium bovis* BCG boosting immunization strategy using mycobacterial Hsp70, Hsp65, and Apa antigens improves protection against tuberculosis in mice. *Infect Immun.* 2004;72(12):6945-50.
29. Robinson A, Hudson MJ, Cranage MP, editors. Vaccine protocols. 2nd ed. Totawa: Humana; 2003. DNA vaccines: an update; p. 377-89.
30. Johansen P, Raynaud C, Yang M, Colston MJ, Tascon RE, Lowrie DB. Antimycobacterial immunity induced by a single injection of *M. leprae* Hsp65-encoding plasmid DNA in biodegradable microparticles. *Immunol Lett.* 2003;90(2-3):81-5.
31. Lowrie DB, Tascon RE, Colston MJ, Silva CL. Towards a DNA vaccine against tuberculosis. *Vaccine.* 1994;12(16):1537-40.
32. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, et al. Novel prophylactic and therapeutic vaccine against tuberculosis. *Vaccine.* 2009;27(25-26):3267-70.
33. Lowrie DB, Tascon RE, Bonato VL, Lima VM, Faccioli LH, Stavropoulos E, et al. Therapy of tuberculosis in mice by DNA vaccination. *Nature.* 1999;400(6741):269-71.
34. Paula L, Silva CL, Carlos D, Matias-Peres C, Sorgi CA, Soares EG, et al. Comparison of different delivery systems of DNA vaccination for the induction of protection against tuberculosis in mice and guinea pigs. *Genet Vaccines Ther.* 2007;5:2.
35. McShane H, Pathan AA, Sander CR, Keating SM, Gilbert SC, Huygen K, et al. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing antigen 85A boosts BCG-primed and naturally acquired antimycobacterial immunity in humans. *Nat Med.* 2004;10(11):1240-4.
36. Sorensen AL, Nagai S, Houen G, Andersen P, Andersen AB. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1995;63(5):1710-7.
37. Brodin P, Majlessi L, Marsollier L, Jonge MI, Bottai D, Demangel C, et al. Dissection of ESAT-6 system 1 of *Mycobacterium tuberculosis* and impact on immunogenicity and virulence. *Infect Immun.* 2006;74(1):88-98.
38. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J Bacteriol.* 1996;178(5):1274-82.
39. Berthet FX, Rasmussen PB, Rosenkrands I, Andersen P, Gicquel B. A *Mycobacterium tuberculosis* operon encoding ESAT-6 and a novel low-molecular-mass culture filtrate protein (CFP-10). *Microbiology.* 1998;144(Pt 11):3195-203.
40. Fan XL, Yu TH, Gao Q, Yao W. Immunological properties of recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin strain expressing fusion protein IL-2-ESAT-6. *Acta Biochim Biophys Sin.* 2006;38(10):683-90.
41. Li Y, Bao L, Zhang HD, Li YS, Zhu HL. Construction of recombinant *Mycobacterium smegmatis* expressing ESAT-6 and its effects on macrophages. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2006;26(7):923-6.
42. Brandt L, Skeiky YA, Alderson MR, Lobet Y, Dalemans W, Turner OC, et al. The protective effect of the *Mycobacterium bovis* BCG vaccine is increased by coadministration with the *Mycobacterium tuberculosis* 72-kilodalton fusion polyprotein Mtb72F in *M. tuberculosis*-infected guinea pigs. *Infect Immun.* 2004;72(11):6622-32.
43. Rigano MM, Dreitz S, Kipnis AP, Izzo AA, Walmsley AM. Oral immunogenicity of a plant-made, subunit, tuberculosis vaccine. *Vaccine.* 2006;24(5):691-5.
44. Vordermeier HM, Huygen K, Singh M, Hewinson RG, Xing Z. Immune responses induced in cattle by vaccination with a recombinant adenovirus expressing Mycobacterial antigen 85A and *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 2006;74(2):1416-8.
45. Rabahi MF, Junqueira-Kipnis AP, Reis MC, Oelemann W, Conde MB. Humoral response to HspX and GlcB to previous and recent infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC Infect Dis.* 2007;7:148.
46. Gupta UD, Katoch VM, McMurray DN. Current status of TB vaccines. *Vaccine.* 2007;25(19):3742-51.
47. Qie YQ, Wang JL, Liu W, Shen H, Chen JZ, Zhu BD, et al. More vaccine efficacy studies on the recombinant bacille calmette-guerin co-expressing Ag85B, Mpt64 and Mtb8.4. *Scand J Immunol.* 2009;69(4):342-50.