

Nova estratégia
de combate à dengue

Wolbachia

Doença de grande importância para a saúde pública, a dengue infecta cerca de 390 milhões de pessoas por ano no mundo. Como ainda não existe um tratamento específico ou uma vacina, a principal medida adotada contra a doença é o controle do mosquito que a transmite, o *Aedes aegypti*. Na busca de estratégias alternativas para evitar novos surtos e epidemias, descobriu-se que a capacidade de transmissão do vírus da dengue é significativamente reduzida quando mosquitos *Aedes* têm em seu organismo a bactéria *Wolbachia*.

O uso desse micro-organismo – já há estudos nesse sentido no Brasil – poderá reduzir a disseminação da doença.

Daniela da Silva Gonçalves e Luciano A. Moreira

Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (MG)

A dengue, doença responsável pelo maior número de hospitalizações no mundo atual, é causada pelo vírus DENV, que tem cinco tipos diferentes (sorotipos) – o quinto, descoberto na Malásia em outubro, ainda exigirá maiores estudos. A Organização Mundial da Saúde estima que cerca de 100 milhões de pessoas contraem a doença por ano, no mundo, mas estudos indicam que esse número pode ser até quatro vezes maior. Cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em áreas de risco de infecção, nas regiões tropicais e subtropicais (ver ‘Três formas diferentes’).

O vírus é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente da espécie *Aedes aegypti*, hoje presente em áreas tropicais e subtropicais de todo o mundo. A transmissão ocorre quando uma fêmea do inseto se alimenta de sangue (importante para a maturação de seus ovos) em uma pessoa que esteja na fase aguda (inicial) da doença. Com o sangue, o mosquito ingere o vírus, que se desenvolve em seu organismo e, após cerca de 10 dias, pode ser injetado em outro indivíduo picado pelo inseto, fechando o ciclo de transmissão.

Acredita-se que a dengue surgiu no Sudeste Asiático, de onde aos poucos se espalhou pelo mundo. Em 1780

aconteceram, na América do Norte e na África, os primeiros surtos atribuídos à doença fora da Ásia, e a primeira epidemia de dengue hemorrágica ocorreu em 1953 nas Filipinas. No Brasil, além de prováveis surtos no século 19, a doença causou epidemias em São Paulo, em 1916, e em Niterói (RJ), em 1923, mas as campanhas de combate aos mosquitos transmissores da febre amarela também eliminaram o *Aedes* do país por várias décadas. A dengue retornou nos anos 1980, com epidemias em Roraima (1982) e depois em algumas capitais nordestinas (Maceió, Fortaleza e Recife) e no Rio de Janeiro (1986-1987). A partir daí, espalhou-se por praticamente todo o território nacional.

Segundo dados do Sistema de Vigilância Epidemiológica da Dengue, entre 2000 e 2012 foram registrados no território brasileiro pouco mais de 5,8 milhões de casos de dengue. Foram confirmados, no mesmo período, 22.501 casos da forma grave (com 1.533 mortes) e 69.415 da forma ‘com complicações’ (com 1.639 mortes). As maiores epidemias aconteceram em 2002, 2008 e 2010. Em 2013, somente no primeiro semestre, foram notificados cerca de 1,47 milhão de casos de dengue no Brasil, com mais de 500 mortes.

Bactéria contra vírus O combate ao *A. aegypti*, com inseticidas e campanhas de prevenção que visam reduzir a infestação de mosquitos, é a principal estratégia adotada atualmente contra a dengue. Mas equipes de pesquisa em todo o mundo tentam encontrar outras formas de controlar a doença, para reduzir o número de pessoas infectadas e de casos graves que exigem internação, o que, além de evitar mortes desnecessárias, diminuiria o custo social e financeiro dos surtos, que são mais intensos no período de chuvas, entre março e junho. Há mais de 30 anos tenta-se criar uma vacina que imunize as populações humanas, protegendo-as dos diversos sorotipos, mas muitos ‘candidatos’ a vacina falharam e os ainda em estudo dependem de testes de campo.

Há alguns anos, porém, surgiu uma alternativa de controle biológico da dengue. Cientistas que estudavam bactérias do gênero *Wolbachia* – presentes em cerca de 60% dos insetos do mundo – descobriram que ela é capaz de impedir a transmissão do DENV, ao afetar o desenvolvimento normal do vírus no organismo dos insetos, gerando uma estratégia promissora de combate à doença. A *Wolbachia* é transmitida apenas das fêmeas para seus descendentes e só vive dentro das células dos insetos hospedeiros. Essa bactéria, nunca encontrada em vertebrados, é inofensiva a animais e seres humanos.

O mosquito *A. aegypti*, porém, não é naturalmente infectado pela bactéria. Para que isso ocorresse, pesquisadores da Universidade de Monash, na Austrália, isolaram linhagens de *Wolbachia* da mosca-das-frutas (*Drosophila melanogaster*), cultivaram a bactéria em cé-

lulas de mosquito e, após milhares de microinjeções em ovos de *A. aegypti*, conseguiram que a infecção se tornasse estável em populações da espécie. Nos hospedeiros, a bactéria invade e coloniza diversos tecidos, como glândulas salivares, intestino, músculos torácicos e órgãos reprodutivos, e esse último passo é essencial para que seja transmitida aos descendentes do inseto infectado.

Assim que a bactéria se estabeleceu no *A. aegypti*, observou-se que ela era capaz de reduzir a replicação do vírus da dengue nos tecidos do inseto e bloquear sua transmissão. Esses efeitos decorrem possivelmente do aumento da imunidade que a bactéria induz no mosquito e também da competição por nutrientes celulares, já que ambos – vírus e bactéria – vivem dentro das células.

Além disso, a *Wolbachia* induz nos hospedeiros uma anormalidade reprodutiva chamada tecnicamente de ‘incompatibilidade citoplasmática’. As fêmeas do mosquito infectadas geram ovos férteis quando copulam tanto com machos infectados quanto com não infectados, transmitindo a bactéria aos descendentes, mas, devido a essa anormalidade, o cruzamento de fêmeas não infectadas com machos infectados leva ao bloqueio total ou parcial do número de ovos férteis. Com isso, as fêmeas com *Wolbachia* têm mais chance de deixar descendentes, o que favorece a disseminação da bactéria na população de mosquitos.

O real mecanismo envolvido na incompatibilidade citoplasmática ainda não foi elucidado, mas sugere-se que a bactéria modifica o espermatozoide do hospedeiro, o que impede o desenvolvimento dos embriões. Essa anormalidade é um fator importante para garantir sucesso no controle da dengue, já que a bactéria promove a própria propagação no ambiente e, com o tempo, 100% dos mosquitos estarão infectados, reduzindo ou eliminando a transmissão do vírus DENV.

Eliminar a dengue O projeto de uso da *Wolbachia* para tentar reduzir os casos de dengue teve início na Austrália e se expandiu para Indonésia, China e Vietnã. Na Austrália e no Vietnã, já aconteceram as liberações de linhagens de *A. aegypti* com a bactéria. No Brasil, a primeira liberação está programada para este ano, em algumas localidades do estado do Rio de Janeiro.

Na Austrália, já foram realizadas solturas em sete localidades no norte do país, e estudos confirmaram que a infecção se espalha rapidamente pela população de mosquitos. Verificou-se, por exemplo, que após 10 semanas de soltura (em 2011, em duas localidades) a proporção de mosquitos com a *Wolbachia* foi bem próxima dos 100%, e até hoje se mantém alta, revelando que a bactéria se estabeleceu com sucesso. O próximo passo será mostrar que essa estratégia pode reduzir o número de casos da doença. Para isso, porém, é preciso realizar testes em países onde a dengue é endêmica.

No Brasil, o projeto multidisciplinar ‘Eliminar a Dengue: Desafio Brasil’, com o apoio do Ministério da Saúde, foi iniciado em 2012. Estão sendo feitos cruzamentos entre os insetos para que a *Wolbachia* seja transmitida para linhagens de *A. aegypti* que tenham a carga genética da população desses insetos existente no país. Também vêm sendo realizados testes, em laboratório, para confirmar se a *Wolbachia* também é capaz de bloquear os vírus da dengue que circulam no território brasileiro.

A adoção dessa nova estratégia de combate, no entanto, não significa que a população pode abandonar as atividades – bastante eficazes – de controle dos mosquitos (como eliminar criadouros, ou seja, depósitos de água parada ao ar livre e outros). A inspeção frequente das moradias deve continuar mesmo após a introdução da *Wolbachia* em uma localidade.

Está em andamento o processo de escolha das primeiras localidades (Urca, Tubiacanga, Vila Valqueire e

Jurujuba, no estado do Rio de Janeiro) em que ocorrerão as liberações e vêm sendo definidas as ações necessárias para levar informações detalhadas sobre o projeto aos moradores, para maior adesão e contribuição às medidas de controle. Em paralelo, está sendo feito um reconhecimento minucioso da população nativa do *A. aegypti*, visando evitar que o número de mosquitos aumente consideravelmente nas áreas onde ocorrerem as solturas.

As populações de mosquitos também serão monitoradas após a liberação das linhagens infectadas, para verificar se a bactéria se propagou e se estabeleceu no ambiente. Em seguida, será avaliado o efeito da bactéria na capacidade de bloqueio ao vírus da dengue. Com base nos resultados já obtidos nos países onde esses mosquitos foram liberados, esperam-se resultados positivos, com a disseminação da *Wolbachia* nas populações de mosquitos no Brasil e, no futuro, a redução considerável de casos de dengue e possivelmente das mortes causadas por essa doença. ■

Sugestões para leitura

MOREIRA, L. A.; O'NEILL, S. L. e outros. 'A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, chikungunya, and Plasmodium', em *Cell*, v. 139, p. 1.268, 2009.

WERREN, J. H.; BALDO, L. e CLARK, M. E. 'Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology', em *Nature Reviews*, v. 6, p. 741, 2008.

OLIVEIRA, C. D. e MOREIRA, L. A. 'Uso de *Wolbachia* no controle biológico', em SILVA-NETO, M. A. C.; WINTER, C. e TERMIGNONI, C. (orgs.), Tópicos avançados em entomologia molecular. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, 2012. Disponível em www.inctem.bioqmed.ufrj.br/biblioteca/arhrolivro-1/capitulo-19-uso-de-wolbachia-no-controle-biologico/view.

TRÊS FORMAS DIFERENTES

A dengue é uma doença viral que tem como sintomas iniciais febre alta, dor de cabeça, dor em músculos e juntas, manchas vermelhas na pele e prostração – vômitos e diarreia também podem ocorrer, especialmente em crianças. Na maioria dos casos, os sintomas duram cerca de uma semana e desaparecem sem sequelas: é a dengue clássica. Mas há outras duas formas da doença que exigem maiores cuidados: a dengue grave (nome recomendado, em lugar de dengue hemorrágica, já que em muitos casos graves não há hemorragia) e a dengue com complicações.

Na forma grave, podem ocorrer sangramentos espontâneos em certas mucosas (nariz, gengiva e outras) e hematomas decorrentes do rompimento de vasos sanguíneos na pele. Em casos severos, pode haver hemorragia nos aparelhos digestivo e urinário, queda acentuada da quantidade de plaquetas (células responsáveis pela coagulação do sangue) e variações na pressão sanguínea, quadro que pode levar o paciente à morte, se não receber tratamento. A forma com complicações inclui alterações neurológicas, cardiorrespiratórias, hepáticas e outras, e também pode ser fatal.



Figura 1. Número de casos de dengue no Brasil entre 2000 e 2012, segundo o Portal da Saúde, do Ministério da Saúde, mostrando picos em 2002, 2008 e 2010 e, em vermelho, o número de mortes

Figura 2. A presença da *Wolbachia* causa nos insetos uma anormalidade reprodutiva, a incompatibilidade citoplasmática: o cruzamento de machos com a bactéria e fêmeas sem ela não gera descendentes, mas o de fêmeas com *Wolbachia* (e machos com ou sem a bactéria) gera embriões viáveis e infectados, o que aumenta rapidamente a população de insetos com *Wolbachia*.

