

## Vaccines against rotavirus and human papillomavirus (HPV)

*Vacinas contra rotavírus e papilomavírus humano (HPV)*

Alexandre C. Linhares<sup>1</sup>, Luisa Lina Villa<sup>2</sup>

### Resumo

**Objetivos:** Sintetizar as estratégias para a obtenção de uma vacina contra rotavírus e papilomavírus humano (HPV), enfatizando-se o estágio atual das investigações quanto à segurança, reatogenicidade, imunogenicidade e eficácia.

**Fontes dos dados:** Os artigos publicados de 1996 a 2006, particularmente ao longo dos últimos 5 anos, representaram a fonte primária (base de dados: MEDLINE, PubMed, NIH, EUA), conferindo-se destaque aos recentes estudos envolvendo uma vacina contendo rotavírus atenuado de origem humana e dois tipos de vacinas para HPV testadas em humanos: as profiláticas e as terapêuticas.

**Síntese dos dados:** Em relação às vacinas contra rotavírus, o contexto de estratégias compreendeu desde as preparações jennerianas até o advento da vacina com rotavírus atenuado de origem humana. Duas vacinas despontam como eficazes e seguras: uma, pentavalente, envolvendo vírus de bovinos e do homem; outra, de rotavírus atenuado oriundo da espécie humana, sendo que esta é avaliada em mais de 70.000 crianças no mundo. As vacinas contra HPV profiláticas visam impedir a infecção por esses vírus, enquanto que as vacinas terapêuticas pretendem tratar o indivíduo já infectado ou até o portador de uma lesão causada por HPV. As pesquisas com vacinas profiláticas começaram há alguns anos nos EUA e, hoje, aproximadamente 25.000 mulheres, em vários países, participam de estudos sobre essa vacina, que até o momento tem se mostrado segura, bem tolerada, altamente imunogênica e eficaz contra os tipos de HPV que causam as verrugas genitais e 70% dos casos de câncer do colo do útero.

**Conclusões:** Uma vacina eficaz e segura contra rotavírus resultará em impacto significativo quanto à doença grave por esse enteropatógeno. Um programa global de imunizações que consiga atingir 60 a 80% das crianças durante os próximos 10 anos pode reduzir em pelo menos 50% as hospitalizações e a mortalidade por rotavírus. Antecipa-se que a implementação de vacinas de elevada eficácia na prevenção de tumores benignos e malignos causados por alguns tipos de HPV leve a uma queda acentuada das taxas desses tumores, os quais afetam milhões de pessoas em todo o mundo.

*J Pediatr (Rio J). 2006;82(3 Supl):S25-34: Rotavírus, gastroenterite, vacina, papilomavírus humano, HPV, câncer do colo do útero, verrugas genitais.*

### Abstract

**Objective:** To briefly review strategies aimed at the development of rotavirus and HPV vaccines, with emphasis on the current status of studies assessing the safety, reatogenicity, immunogenicity and efficacy of recently developed vaccines.

**Sources of data:** This review focuses on articles published from 1996 to 2006, mainly those from the last five years, with special emphasis on data obtained from recently completed studies involving a new live attenuated human rotavirus vaccine and a virus-like particle (HPV) vaccine.

**Summary of the findings:** Strategies for developing rotavirus vaccines ranged from Jennerian approaches to the new human-derived rotavirus vaccine. Currently, two rotavirus vaccines are recognized as both efficacious and safe: a pentavalent human-bovine reassortant vaccine and a vaccine derived from an attenuated rotavirus of human origin. The second of these has been evaluated in more than 70,000 infants all over the world. Prophylactic vaccines against HPV have been tested in more than 25,000 young individuals around the world. Results from phase II and III clinical studies indicate that such vaccines against the most common types of HPV, those linked to both genital warts and 70% of cervical cancers, are safe and highly efficacious.

**Conclusions:** A future rotavirus immunization program covering 60 to 80% of infants worldwide is likely to reduce by at least 50% the number of rotavirus-associated hospitalizations and deaths. It is also reasonable to expect that implementation of HPV prophylactic vaccines will reduce the burden of the HPV-related diseases that presently impact millions of people around the world.

*J Pediatr (Rio J). 2006;82(3 Supl):S25-34: Rotavirus, gastroenteritis, vaccine, human papillomavirus, HPV, cervical cancer, genital warts.*

1. Médico, virologista, Instituto Evandro Chagas, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Belém, PA. Professor, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA. Doutor em Biologia Parasitária (Virologia), Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ.
2. Biologista molecular, virologista, Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer, São Paulo, SP. Doutor em Ciências, Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP.

**Como citar este artigo:** Linhares AC, Villa LL. Vaccines against rotavirus and human papillomavirus (HPV). *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(3 Suppl): S25-34.

### Introdução

Revela-se sobremaneira expressivo o impacto global da doença causada pelos rotavírus, tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento<sup>1</sup>. Há uma diferença marcante, contudo, se cotejados os dois panoramas: enquanto, nos primeiros, os óbitos são raros, naquelas regiões mais pobres do planeta, aproximadamente meio milhão de crianças morrem anualmente infectadas por

rotavírus. Com efeito, estimativas recentes traduzem tal impacto em 111 milhões de episódios diarreicos a cada ano, dos quais 2 milhões requerem hospitalização, tendo como consequência pelo menos 600.000 óbitos entre crianças com idade inferior a 5 anos<sup>2</sup>.

Ao longo das duas últimas décadas, o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra rotavírus assumiu notória prioridade no âmbito de vários organismos internacionais, entre outros, Organização Mundial da Saúde (OMS), Instituto de Medicina dos Estados Unidos e a Aliança Mundial para Vacinas e Imunizações<sup>3</sup>. Sucederam-se múltiplas estratégias, abrangendo desde as tentativas pioneiras, designadas jennerianas, até o advento das vacinas ora em fase III de avaliação ou mesmo licenciadas. As informações a seguir denotam, sinteticamente, as estratégias até então adotadas, com ênfase às vacinas correntemente sob testes ou mesmo em processo de licenciamento.

### **Estratégias pioneiras adotadas: breves considerações históricas**

#### *Procedimentos jennerianos*

As primeiras candidatas à vacina contra rotavírus compreenderam estratégia similar àquela levada a efeito por Edward Jenner há mais de 2 séculos. Os experimentos pioneiros envolveram as amostras RIT 4237 e WC3, ambas de origem bovina, avaliadas na Finlândia e nos EUA, respectivamente. Não obstante os expressivos índices de eficácia (> 80%) alcançados nesses países, investigações subsequentes empreendidas na América do Sul e África ofereceram níveis protetores frustrantes, sobrevivendo a descontinuação dos testes<sup>4</sup>.

A seguir, desenvolveram-se múltiplos estudos com a amostra viral de origem símia RRV (ou MMU 18006), sorotipo G3, daí advindo resultados amplamente variáveis. Sobrevieram então as preparações polivalentes, visando-se à postulada necessidade de proteção tipo-específica.

#### *Estratégias jennerianas modificadas*

Dada a natureza segmentada do genoma viral, tais estratégias resultavam em amostras geneticamente reestruturadas, a partir do co-cultivo envolvendo rotavírus de origens animal e humana. Propunha-se desenvolver "quimeras" contendo 10 genes dos rotavírus oriundos de animais e outro das amostras virais obtidas da espécie humana<sup>5</sup>. Tais preparações compreenderam, basicamente, rotavírus resultantes da permuta genética entre as amostras WC3 e RRV e os sorotipos que infectam o homem.

O advento da vacina tetravalente de origem símia-humana, designada RRV-TV (*rhesus-human reassortant tetravalent vaccine*), ensejou inúmeros e extensos estudos em vários países<sup>1,6-9</sup>. Os expressivos níveis protetores alcançados com essa vacina, particularmente na Venezuela, fundamentaram o seu licenciamento nos EUA em agosto de 1998, sob a designação comercial Rotashield® (Wyeth-Laboratories®, Inc., Marietta, Pensilvânia). Um ano após, uma vez administrada a 900.000 crianças, emergiram 15 casos de intussuscepção (ou invaginação intestinal) como

possível evento adverso grave associado à vacina, sobrevivendo a suspensão do seu uso<sup>10,11</sup>. Revelou-se notório o fato de 81% dos casos dessa obstrução intestinal ocorrerem em crianças com idade superior a 3 meses, não obstante se constituírem em menos da metade do contingente total vacinado. Tais evidências concorreram para que – com a nova geração de vacinas – preconize-se a faixa etária máxima de 12 a 14 semanas para a administração das primeiras doses. Registre-se, ainda, que hoje prevalece consenso indicando a proporção de 1 criança para cada 10.000 vacinadas com a Rotashield®, no que concerne ao risco de desenvolver intussuscepção<sup>1,12,13</sup>.

Um segundo grupo de vacinas envolvia preparações de origens bovina (amostra WC3) e humana, configurando formulação tetravalente para uso em três doses. Estudos concernentes à sua eficácia denotaram proteção de 67% frente à totalidade dos episódios diarreicos por rotavírus<sup>14</sup>.

#### *Candidatas à vacina de origem humana*

Tais procedimentos sustentavam-se em observações indicativas de que infecções naturais repetidas culminam com sólida proteção<sup>15</sup>. As tentativas primordiais nesse contexto envolveram rotavírus obtidos de recém-nascidos em berçários. A amostra M37, tipo G1, isolada de um neonato na Venezuela, caracterizou-se como a primeira candidata à vacina, à luz dessas estratégias. Os índices inexpressivos de eficácia alcançados em testes na Finlândia, entretanto, promoveram a descontinuação dos estudos com a M37<sup>1</sup>.

### **Panorama atual das vacinas: testes em curso e licenciamentos**

O aparente insucesso dos testes envolvendo as candidatas à vacina descritas no tópico anterior, mormente a suspensão do uso da Rotashield® nos EUA, culminou com inusitado retrocesso. Entretanto, resultaram lições determinantes que concorreram para o momento auspicioso atual. Aliás, singularidade bem configurada por Glass et al.<sup>16</sup>, em recente artigo de título emblemático: *The future of rotavirus vaccines: a major setback leads to new opportunities*. A Tabela 1 reúne, de forma sintética, as características básicas das vacinas presentemente sob análise ou mesmo licenciadas.

A seguir, descrevem-se, sucintamente, as características de cada vacina integrante da geração atual sob testes clínicos e aquelas devidamente licenciadas, com ênfase para a RotaRix®, a qual, aliás, foi recentemente licenciada em alguns países da América Latina.

#### *LLR*

Trata-se de vacina representada por rotavírus atenuado de origem ovina, sorotipo G10, produzida pelo Lanzhou Institute of Biological Products na China. Apesar do licenciamento para uso em larga escala nesse país, ainda persistem restrições sobre a metodologia empregada nos testes<sup>1,4</sup>.

**Tabela 1** - Vacinas contra rotavírus em diferentes fases de análise ou licenciadas

<b>Vacina</b>	<b>Produtor</b>	<b>Origem e características da preparação</b>	<b>Estágio de desenvolvimento</b>
LLR	Lanzhou Institute of Biological Products	Ovina, tipo G10	Licenciada na China
RotaTeq®	Merck Sharp & Dohme® (EUA)	Bovino-humana, pentavalente	Fase III concluída e licenciada nos EUA
RotaRix®	GlaxoSmithKline® (Bélgica)	Humana, monovalente	Fase III concluída e licenciada em alguns países *
Derivada da UK	National Institutes of Health (EUA)	Bovino-humana, tetravalente	Fase II
RV3	Universidade de Melbourne (Austrália)	Neonatal, monovalente	Fase II
116E e I321	Bharat Biotech® (Índia)	Neonatais, monovalentes	Fase I
RRV-TV	NIH e Biovirx® (EUA)	Símio-humana, tetravalente	Licenciada nos EUA, não mais fabricada

\* México, República Dominicana e Brasil.

#### *RotaTeq®*

Esta vacina compreende preparação pentavalente, derivada da amostra bovina WC3, reunindo amostras geneticamente reestruturadas com especificidades antigênicas para os tipos G1, G2, G3, G4 e P1A[8]. Trata-se de produto não-reatogênico e altamente eficaz, alcançando níveis protetores de até 100% frente aos episódios diarreicos mais graves<sup>17</sup>. Recentemente, foram concluídos estudos de fase III com a RotaTeq®, envolvendo pelo menos 68.000 crianças, sendo que, no início de 2006, a vacina foi licenciada pelo Food and Drug Administration (FDA) nos EUA. Além da ausência quanto ao risco representado pela intussuscepção, tal vacina revelou-se 94,5% eficaz frente às hospitalizações e consultas nas emergências relacionadas aos tipos virais G1 a G4, reduziu em 74% as gastroenterites associadas a esses sorotipos e exibiu níveis protetores de 98% referentes aos episódios graves causados por rotavírus<sup>18</sup>.

#### *RotaRix® (amostra RIX4414)*

Entre as estratégias envolvendo rotavírus atenuados de origem humana, merece destaque a RotaRix® (amostra RIX4414), da GlaxoSmithKline® Biologicals (GSK), Rixensart, Bélgica. Essa preparação monovalente, entre as múltiplas candidatas à vacina contra rotavírus, ora cumpre avançado estágio de estudos, inclusive já licenciada em alguns países da América do Sul e no Kuwait<sup>4</sup>. As investigações com a RIX4414 envolveram mais de 72.000 crianças em 20 países, configurando pelo menos 15 ensaios clínicos. Abaixo são enunciados, muito sucintamente, os resultados advindos dessas múltiplas análises.

#### **Origem da vacina e estudos precursores**

Registrou-se o isolamento da amostra viral (designada originalmente 89-12), a partir das fezes de criança em Cincinnati, Ohio, EUA, com diarreia moderada<sup>19-21</sup>. Passagens em culturas celulares e procedimentos de clonagem resultaram na amostra atenuada RIX4414, com especificidade antigênica G1 (glicoproteína) e P[8] (proteína sensível à protease)<sup>21</sup>. O produto ora sob licenciamento para uso oral apresenta-se liofilizado em frascos individuais, preconizando-se a sua administração aos 2 e 4 meses de idade.

Levaram-se a efeito as investigações de natureza pré-clínica com a RIX4414 na Finlândia, quando se avaliaram aspectos relacionados à segurança, imunogenicidade e eficácia<sup>22</sup>. Não se identificaram reações adversas importantes, observando-se, ainda, resposta imune satisfatória em mais de 95% das crianças suscetíveis<sup>23</sup>. Por outro lado, configurou-se índice protetor da ordem de 90% se considerados os episódios diarreicos clinicamente graves<sup>24</sup>.

#### **Extensos estudos de fase II com a vacina RIX4414**

Os resultados promissores alcançados na Finlândia estabeleceram as bases para o desenvolvimento de estudos ulteriores na América Latina (Brasil, México e Venezuela) e em Singapura<sup>22,25-27</sup>. Os testes conduzidos nos países latino-americanos envolveram 2.155 crianças, às quais se administraram duas doses da vacina, avaliada sob três concentrações distintas [ $10^{4,7}$  unidades formadoras de focos (UFF),  $10^{5,2}$  UFF e  $10^{5,8}$  UFF] ou placebo, aos 2 e 4 meses de vida. Os estudos na Ásia, por sua vez, compreen-

deram 2.464 indivíduos que receberam vacina ou placebo aos 3 e 4 meses. A seguir, denotam-se os principais indicadores relacionados à reatogenicidade, segurança, imunogenicidade e eficácia na América Latina.

Avaliou-se o aspecto da tolerância à vacina, registrando-se a frequência dos "sintomas solicitados" durante 15 dias após a administração de cada dose. Nesse contexto, observaram-se percentuais comparáveis de febre, diarreia, vômitos, irritabilidade, anorexia e tosse/coriza, se cotejadas as três concentrações vacinais ou placebo (Figura 1)<sup>22,25,27</sup>. Não foram observados quaisquer eventos adversos graves relevantes ou óbitos guardando nexos causais com a vacina sob estudo, incluindo a intussuscepção.

A resposta imune em termos da frequência das conversões sorológicas expressas por imunoglobulina A específica para rotavírus também se constituiu em objeto de análise nos estudos de fase II na América Latina. A Figura 2 demonstra variação de 61 a 65%, se analisadas as amostras de soro obtidas após a segunda dose, em nítido contraste com as respostas exibidas pelas crianças que receberam placebo.

Em relação à resposta imunológica, convém assinalar o fato de que o *take* ("pega") da vacina - combinação das conversões sorológicas e a excreção do vírus vacinal - alcança 75% após duas doses na concentração mais elevada, qual seja, 10<sup>5,8</sup> UFF<sup>25,27</sup>.

Um aspecto notório e prático relativo à imunogenicidade reside no fato de que a RIX4414, administrada concomitantemente às vacinas rotineiras, não resulta em qualquer interferência quanto à resposta imune frente a essas últimas<sup>22,25,27</sup>. Sabe-se que a fase II contemplou a administração das vacinas RIX4414 e antipólio oral (OPV) a inter-

valos de 15 dias. Entretanto, estudos envolvendo o uso concomitante de ambas, conduzidos na África do Sul, sustentam inexistir o fenômeno da interferência<sup>27</sup>.

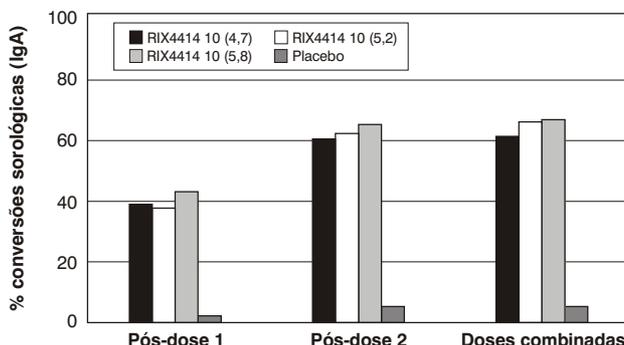


Figura 2 - Conversões sorológicas, expressas em níveis de IgA específica para rotavírus, entre crianças que receberam vacina e placebo (adaptado de Salinas et al.<sup>27</sup>)

De um modo geral, os níveis protetores revelaram-se mais expressivos frente aos quadros diarreicos graves, com base nos escores clínicos propostos por Ruuska & Vesikari<sup>28</sup>. A Figura 3 demonstra as taxas de eficácia, estabelecendo-se correlação entre as concentrações vacinais e a gravidade da gastroenterite por rotavírus. Observou-se que os níveis mais elevados de proteção quanto aos quadros graves alcançaram até 86%, consideradas as formulações com 10<sup>5,2</sup> UFF ou mais vírus vacinais por dose<sup>27</sup>.

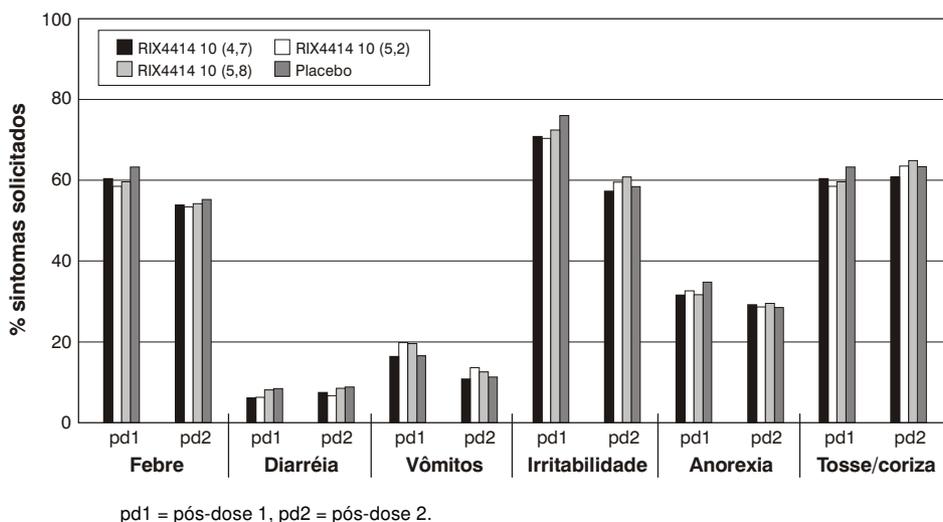
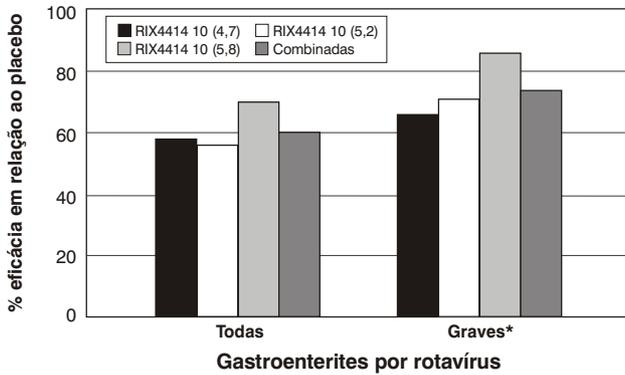


Figura 1 - Frequência dos "sintomas solicitados" durante 15 dias após a administração da vacina RIX4414 ou do placebo (adaptado de Salinas et al.<sup>27</sup>)



\* Gravidade segundo Ruuska & Vesikari<sup>28</sup>.

**Figura 3** - Eficácia da vacina RIX4414 de acordo com as concentrações virais e a gravidade clínica da gastroenterite por rotavírus (adaptado de Salinas et al.<sup>27</sup>)

Apesar do caráter monovalente da vacina, a proteção heteróloga também se revelou evidente. Além da eficácia de 88% em relação ao sorotipo G1, também se configurou notória a proteção (83%) frente aos outros tipos circulantes, inclusive o G9, emergente em escala global<sup>25,27</sup>.

Recentemente foram concluídos extensos estudos de fase III conduzidos em 11 países da América Latina e na Finlândia, nos quais se recrutaram 63.225 crianças<sup>29</sup>. Esse expressivo contingente ensejou determinar a segurança da vacina no tocante ao (antes) postulado risco da intussuscepção. Com efeito, durante 31 dias após cada dose, observaram-se 6 e 7 casos entre as crianças que receberam vacina e placebo, respectivamente (RR = 0,85; IC = 95%; p = 0,78). A par disso, consubstanciaram-se os indicadores progressos de elevada eficácia da RIX4414 em relação aos episódios graves de gastroenterite por rotavírus, alcançando até 85%. No tocante aos sorotipos, revelaram-se evidentes as eficácias homóloga (frente às gastroenterites por G1) e heteróloga (G3, G4 e G9). Já o aparente baixo nível protetor em relação ao tipo G2, da ordem de 45%, a rigor reflete o reduzido número das amostras isoladas com tal especificidade antigênica, a julgar pelo amplo intervalo de confiança. Com efeito, meta-análise compreendendo resultados das fases II e III e, por conseguinte, reunindo suficiente número de rotavírus pertencentes ao tipo G2, demonstram nítida eficácia, alcançando 67%<sup>29</sup>.

*Derivada da amostra bovina UK*

Também entre as candidatas à vacina fundamentadas na permuta genética entre rotavírus de origens animal e humana, destaca-se preparação tetravalente (G1, G2, G3 e G4) produzida a partir da amostra UK, concebida nos NIH, EUA. Estudos de fase II denotam indicadores satisfatórios quanto aos níveis de inocuidade, eficácia e imunogenicidade<sup>30,31</sup>.

*Amostras de origem neonatal (RV3, 116E e I32)*

Presentemente ainda despontam como candidatas monovalentes à vacina contra rotavírus três amostras isoladas de recém-nascidos, uma avaliada na Austrália (RV3) e outras duas na Índia (116E e I321). A RV3 reserva identidade antigênica com o tipo viral G3, configurando-se como isenta de reações adversas e moderadamente imunogênica<sup>1,4</sup>. As amostras 116E (sorotipo G10) e I321 (G9) denotam potencial imunogênico, além da eficácia frente à reinfeção sintomática por rotavírus<sup>1,4</sup>.

*RRV-TV*

A companhia norte-americana Biovirx<sup>®</sup> ora estabelece planos para uma possível retomada de produção da Rotashield<sup>®</sup>. Sustenta-se que os benefícios dessa vacina nos países em desenvolvimento suplantariam consideravelmente os eventuais riscos representados pela intussuscepção. Estes, segundo os que defendem a produção da RRV-TV, têm sido superestimados nas análises até então empreendidas<sup>4</sup>.

**Perspectivas**

Conquanto promissores os resultados com duas vacinas baseadas em vírus vivos atenuados, RotaRix<sup>®</sup> e RotaTeq<sup>®</sup>, ainda persistem esforços visando a novas preparações para provável uso no futuro. Destaque-se uma formulação simiohumana hexavalente<sup>32</sup>, bem como outra compreendendo rotavírus de origem suína como o substrato a partir do qual ocorre o rearranjo genético com os sorotipos que infectam o homem<sup>33,34</sup>. Como possíveis vacinas do futuro, ressaltam-se ainda aquelas contendo rotavírus (ou fragmentos virais) inativados, os quais são, em tese, desprovidos de qualquer risco no tocante à intussuscepção<sup>1</sup>.

**Vacina contra papilomavírus humano (HPV)**

As estimativas mundiais indicam que aproximadamente 20% de indivíduos normais estão infectados com HPV e que a cada ano surgem em torno de 500.000 casos novos de câncer do colo do útero, dos quais em torno de 70% ocorrem em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Também estima-se que haja entre 10 a 20 vezes mais lesões precursoras desses tumores, o que implica em um contingente muito grande de indivíduos afetados<sup>35</sup>. O diagnóstico precoce e o controle dessas neoplasias baseia-se, há mais de 40 anos, na observação de alterações morfológicas de esfregaços cervicais estabelecido por G. Papanicolaou. Em países onde a citologia oncológica foi ampliada para a maior parte da população, observou-se uma diminuição importante da incidência e mortalidade por esse tumor. Infelizmente, uma fração muito pequena, não superior a 15%, da população feminina brasileira está envolvida em um programa de prevenção do câncer do colo uterino, o que explica, em parte, as altas incidências dessa neoplasia em nosso país. No entanto, mesmo em países desenvolvidos, com ampla cobertura da população por programas de prevenção, existe uma porcentagem importante de mulheres que continuam

sucumbindo à doença devido a falhas do teste de Papanicolaou<sup>36</sup>.

Há suficientes evidências moleculares e epidemiológicas que comprovam a relação etiológica entre certos tipos de HPV e o câncer do colo do útero e suas lesões precursoras. Recentemente, vários estudos indicam que a detecção de DNA de HPV, dos tipos de alto risco, no esfregaço celular prediz a presença de lesão precursora do câncer do colo do útero em pacientes que apresentam resultado negativo ou duvidoso à citologia. Além disso, há boas indicações de que o teste molecular de HPV possa servir como um "controle de qualidade" da citologia, reduzindo o número de resultados falso-negativos<sup>37</sup>.

Mais de 98% dos tumores de colo de útero são causados por esses vírus<sup>36</sup>. Os tipos de HPV presentes nesses tumores são diferentes daqueles encontrados em lesões benignas da região anogenital, dentre as quais os condilomas são os mais freqüentes, sobretudo entre os jovens ou em pacientes imunodeprimidos. Uma outra patologia que representa bem o impacto das infecções por HPV, apesar de muito rara, é a papilomatose laríngea juvenil, ou papilomatose respiratória recorrente, causada pelos tipos 6 e 11, tipicamente dois vírus de baixo risco oncogênico, uma vez que raramente são encontrados em tumores malignos<sup>38</sup>.

Encontram-se descritos mais de uma centena de HPV, sendo aproximadamente a metade considerada de alto risco oncogênico. Em neoplasias malignas da região anogenital, de diferentes populações e regiões do mundo, encontram-se mais freqüentemente os tipos 16, 18, 31, 33, 45, 51 e 58. Destes, o HPV 16 sozinho é responsável por aproximadamente metade dos casos de câncer do colo do útero, além de estar envolvido na gênese de outros tumores anogenitais, como vulva, pênis e ânus, embora em proporções muito menores<sup>38</sup>.

As infecções por HPV são relativamente comuns em indivíduos normais, variando de 20 a 40% conforme a idade e o estado imune, sendo mais comuns entre os jovens. A maioria dessas infecções regride espontaneamente, sendo, na maioria das vezes, totalmente assintomática<sup>39</sup>. O risco de desenvolvimento de doença está associado a infecções persistentes por esses vírus, sobretudo aquelas que envolvem os tipos de alto risco oncogênico<sup>40</sup>. Assim, quaisquer medidas que controlem as infecções por HPV deverão ter um impacto no controle das patologias a elas associadas. O primeiro impacto deveria refletir-se na diminuição das taxas de lesões precursoras, mas finalmente o objetivo é controlar a incidência do câncer do colo do útero. A partir da administração de uma vacina de alta eficiência, poder-se-ia estimar, então, que uma redução de 75% na prevalência de HPV tipo 16 apenas possa significar uma redução de 75% na incidência de neoplasia intraepitelial cervical (NIC). Portanto, vacinas efetivas e seguras contra HPV poderiam ser importantes instrumentos de prevenção do câncer do colo do útero em todo o mundo, particularmente nos países em desenvolvimento.

### **Vacinas contra papilomavírus animais**

Os papilomavírus são vírus espécie-específicos e, por-

tanto, não são transmitidos entre espécies animais diferentes. Entretanto, existe uma elevada semelhança na estrutura genômica desses vírus, o que possibilita extrapolar, para os humanos, uma série de aspectos das relações vírus-hospedeiro observadas em animais, particularmente nos aspectos imunológicos dessas infecções. Destacam-se os estudos envolvendo coelhos, caninos e bovinos, cujos vírus infectantes são, respectivamente, o CRPV (*cottontail rabbit papillomavirus*), o COPV (*canine oral papillomavirus*) e os diversos tipos BPV (*bovine papillomavirus*)<sup>41</sup>.

No presente, as vacinas mais eficientes são aquelas desenvolvidas contra o CRPV e o COPV. Ambas são capazes de controlar o desenvolvimento de papilomas causados por esses vírus na pele e mucosa oral de coelhos e cães, respectivamente, impedindo sua progressão natural a tumores malignos, observada em uma certa proporção de casos. A vacina empregando antígenos tardios de COPV na forma de partículas semelhantes a vírus ou VLP (*virus-like particles*) combate o desenvolvimento de verrugas na mucosa oral em 100% dos cães expostos ao vírus. Estudos semelhantes foram conduzidos em coelhos, nos quais a mesma eficiência de controle do aparecimento de papilomas na pele de coelhos causados por CRPV foi obtida vacinando os animais com o antígeno tardio L1 desse vírus. Esse modelo animal tem fornecido dados muito importantes sobre a resposta imune celular a esses vírus, destacando-se o papel do polimorfismo dos genes do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). A variabilidade na ligação e apresentação dos antígenos virais parece interferir na evolução clínica das lesões associadas aos papilomavírus oncogênicos animais e, possivelmente, aos humanos<sup>41</sup>.

Apesar da complexidade dos eventos envolvidos para disparar uma resposta imune eficaz, os estudos realizados em animais forneceram resultados muito positivos quanto ao emprego dessas vacinas. A partir daí, surgiu uma série de propostas para o desenvolvimento e utilização de vacinas contra HPV<sup>42</sup>.

### **Antígenos de HPV**

O capsídeo dos papilomavírus é constituído por duas proteínas designadas L1 e L2. A expressão dos genes tardios L1 sozinho, ou L1 e L2, nos mais diversos sistemas de expressão (bactérias, leveduras, células de inseto), gera partículas cuja estrutura é muito semelhante aos vírions isolados de lesões naturais, mas não contém o DNA viral e, portanto, são designadas por VLP. Conforme descrito anteriormente, esta é a principal fonte de antígenos para vacinação em animais. Dada a semelhança entre as estruturas gênicas desses vírus, a mesma estratégia de produção de antígenos tardios de HPV vem sendo empregada com sucesso, gerando os antígenos que estão sendo empregados em ensaios clínicos em humanos<sup>41</sup>.

Além de VLP de L1 e/ou L2 de diversos tipos de HPV, algumas proteínas precoces também têm sido propostas como antígenos vacinais, particularmente E6 e E7, por estarem diretamente envolvidas no descontrole da proliferação e transformação celulares. Neste caso, a vacina teria um efeito terapêutico, enquanto no primeiro almeja-se a

profilaxia da infecção através do desenvolvimento de uma resposta imune contra os capsídeos virais que simulariam as infecções naturais por esses vírus.

Recentemente, foi possível sintetizar nos sistemas acima mencionados VLP consistindo de L1/L2 e de uma das proteínas precoces que se dispõe internamente à estrutura do capsídeo viral. Essas partículas passaram a ser chamadas de VLP quiméricas, constituindo-se em um antígeno vacinal muito atraente, já que poderia ser utilizado tanto na profilaxia quanto no tratamento das lesões associadas ao HPV. Modelos experimentais empregando a indução de tumores causados por HPV 16 em camundongos comprovam sua eficácia terapêutica, o que estimulou alguns grupos a proporem sua utilização em humanos como vacinas ao mesmo tempo profiláticas e terapêuticas<sup>43</sup>. A eficácia dessas vacinas está sendo testada em pacientes com carcinomas avançados de colo do útero. Até o momento, os resultados indicam uma precária resposta imune específica aos antígenos virais, provavelmente devido ao fato dessas pacientes estarem, na sua maioria, imunodeprimidas diante do estágio avançado da doença. Os conhecimentos que estão sendo adquiridos, no entanto, serão empregados brevemente em ensaios clínicos envolvendo pacientes com tumores em estágios menos avançados.

#### **Estado atual de ensaios de vacinação em humanos com vacinas profiláticas contra HPV<sup>44</sup>**

Ensaios clínicos de vacinas profiláticas contra HPV-16 estão em andamento desde 1997. Na maioria desses ensaios, injetam-se VLP de HPV-16 purificadas a partir de culturas de leveduras ou células de inseto contendo vetores de expressão recombinantes com os genes L1 e/ou L2. Esses sistemas de expressão são muito eficientes, apesar de os processos envolvidos serem demorados e ainda relativamente caros. De qualquer forma, VLP purificadas estão sendo injetadas em humanos em ensaios clínicos de diferentes fases em andamento no mundo, sendo, na sua maioria, estudos duplo-cegos, controlados por placebo.

Os resultados de ensaios clínicos de fase I para vacinas profiláticas contra HPV tipo 11 e tipo 16 indicam que a administração da vacina por via subcutânea ou intramuscular é segura, não tendo causado nenhuma reação adversa ou reações de pequena monta, como dor local e febre por curto espaço de tempo, semelhantes ao do grupo controle, que recebeu apenas placebo (salina ou hidróxido de alumínio). As doses referidas variaram entre 10 e 100 microgramas de VLP purificadas, sendo injetadas puras ou combinadas com hidróxido de alumínio como adjuvante. Após a dose inicial, foram efetuadas duas a três doses reforço em intervalos que variaram de 4 a 16 semanas. Nos ensaios reportados até agora, indivíduos vacinados exibiram uma boa resposta imune avaliada através do aumento da soropositividade aos antígenos virais específicos para cada tipo. Além disso, anticorpos neutralizantes foram detectados em níveis que excedem àqueles observados em indivíduos naturalmente infectados por HPV, indicando que, nesses ensaios, a vacina é imunogênica<sup>41</sup>.

Os resultados de ensaios clínicos de fase II, visando definir a toxicidade e imunogenicidade de vacinas profiláticas contra HPV, são encorajadores. Entretanto, a eficácia dessas vacinas só será realmente avaliada em ensaios clínicos de fase III, envolvendo um número grande de indivíduos representativos da população sob risco de exposição ao agente. É notório que as populações sob maior risco de desenvolver o câncer do colo do útero e suas lesões precursoras estejam localizadas nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, onde deverão ser realizados os ensaios clínicos de eficácia de tais vacinas. Além de vacinas compostas de VLP de L1 de HPV-16<sup>45</sup>, também estão sendo testadas vacinas contendo quatro antígenos virais, correspondendo aos tipos 6, 11, 16 e 18, em ensaios randomizados, duplo-cego, controlados por placebo. Os resultados iniciais indicam que a vacina quadrivalente não causa reações adversas graves, sendo, portanto, bem tolerada. Além disso, os níveis de anticorpos produzidos são muitas vezes maiores que aqueles obtidos nas infecções naturais por esses vírus. Esses resultados permitiram definir as doses que estão sendo utilizadas em ensaios clínicos de fase III, em que se almeja demonstrar, em um grande número de indivíduos, se as diferentes formulações são capazes de controlar não apenas as infecções, mas também o desenvolvimento de lesões causadas por esses HPV. Deve-se destacar que as respostas imunes obtidas são, em sua essência, espécie-específicas, isto é, devem proteger contra os tipos de HPV contidos nas vacinas em teste<sup>42</sup>. Há muito interesse, no entanto, em verificar a possibilidade de proteção cruzada, dada a similaridade genética entre diversos tipos de HPV. Os ensaios clínicos em andamento poderão fornecer tais informações, que ainda não foram claramente estabelecidas.

Há vários centros em todo o mundo, incluindo o Brasil, onde tais vacinas profiláticas estão sendo testadas. Uma vez que se objetiva impedir a infecção por esses tipos de HPV mais comumente associados a lesões benignas (tipos 6 e 11) ou malignas (tipos 16 e 18), estão sendo recrutadas voluntárias saudáveis, entre 16 e 24 anos de idade, e que tiveram menos de quatro parceiros sexuais, para evitar que já estejam infectadas pelo HPV. A vacina quadrivalente está sendo administrada em três doses intramusculares, em ensaios clínicos randomizados, duplo-cegos, controlados por placebo. Recentemente, foram publicados os resultados de duas vacinas profiláticas compostas de VLP de HPV, seja contendo dois tipos (16 e 18)<sup>46</sup>, seja da vacina quadrivalente (6, 11, 16, 18)<sup>47</sup>. Ambas vacinas demonstraram ser seguras, bem toleradas pelas voluntárias jovens. Ainda mais importante, as respostas imunes disparadas por ambas foram muito elevadas, tendo-se observado títulos de anticorpos mais de uma centena de vezes superiores àqueles observados em mulheres da mesma faixa etária naturalmente expostas aos diferentes HPV em estudo. Finalmente, nos dois ensaios clínicos publicados, as vacinas apresentaram elevada eficácia, tendo controlado entre 90 e 100% das infecções pelos tipos de HPV incluídos nas vacinas, além de prevenir entre 95 e 100% das lesões causadas por esses vírus. A Tabela 2 resume os resultados obtidos nesses estudos de forma comparativa.

**Tabela 2** - Resultados de dois ensaios clínicos de fase II de vacinas profiláticas contra HPV

	<b>Merck Sharp &amp; Dohme®<sup>47</sup></b>	<b>GlaxoSmithkline®<sup>46</sup></b>
Antígeno e adjuvantes	VLP de HPV 6, 11, 16 e 18 em hidróxido de alumínio	VLP de HPV 16 e 18 em hidróxido de alumínio e MPL
População do estudo	552 mulheres de 16 a 23 anos, com até quatro parceiros sexuais em toda vida	1.113 mulheres de 15 a 24 anos, com até seis parceiros sexuais em toda vida
Critério de inclusão	Inclui mulheres HPV positivas à admissão	Inclui apenas HPV negativas
Duração do seguimento	36 meses	27 meses
Eficácia na população de acordo com protocolo *		
Infecção persistente †	89%	100%
Lesões no colo do útero ‡	100%	95% §
Verrugas genitais	100%	NA

NA = *not available*.

\* Mulheres soronegativas e negativas para DNA de HPV dos tipos vacinais.

† Para HPV 16 e 18.

‡ Inclui neoplasia cervical epitelial (NIC) graus I, II e III.

§ Baseado apenas em resultados de citologia, enquanto no estudo da MSD há confirmação histopatológica e colposcopia de saída em todas as participantes.

Os ensaios clínicos de fase III já estão em andamento desde 2002, envolvendo dezenas de milhares de voluntários, dentre os quais mulheres jovens (mais de 20.000), mulheres de meia idade, crianças, adolescentes e homens jovens, tanto hetero quanto homossexuais. Esses estudos estão sendo conduzidos em diversos países do mundo, inclusive no Brasil. Recentemente, foram apresentados os primeiros resultados de um desses estudos de fase III, coordenado pela Merck Sharp & Dohme® (MSD), realizado em aproximadamente 12.000 mulheres jovens, das quais metade recebeu placebo e metade a vacina quadrivalente de L1 de HPV 6, 11, 16, 18. Além de confirmar que a vacina é segura, tolerada e altamente imunogênica, observou-se uma eficácia de 100% para prevenir as lesões precursoras do câncer do colo do útero<sup>47</sup>. Esses excelentes resultados propiciaram o pedido de licenciamento da vacina pelas agências reguladoras de diferentes países; nos EUA, o FDA estima que até junho de 2006 o produto obterá permissão para ser comercializado. Isso significa que, entre 2006 e 2007, a primeira vacina quadrivalente contra HPV (GARDASIL®, MSD) estará disponível comercialmente e começará a ser utilizada nos EUA e nos países que também aprovarem sua utilização.

### Considerações finais

A meta precípua de um programa internacional no contexto do desenvolvimento das vacinas contra rotavírus estabelece imunização compreendendo 60 a 80% das crianças do planeta nos próximos 10 anos. Com isso, estima-se

reduzir em 50 a 60% o número de óbitos e hospitalizações associados aos rotavírus em todo o mundo<sup>3,4</sup>. Não obstante ora ocorrerem chances efetivas quanto à consecução desse objetivo, restam algumas etapas a vencer. Conquanto as duas vacinas em mais avançado estágio de desenvolvimento (RotaRix® e RotaTeq®) denotem excelente desempenho, ainda não se empreenderam estudos nas regiões onde prevalece extrema pobreza (por exemplo, África e Ásia), a fim de consolidar a sua eficácia universal. Nessas comunidades, sustenta-se que fatores como subnutrição, infecções por enterovírus e bacterianas, por exemplo, atuam como determinantes de interferência em potencial<sup>1</sup>. A par disso, o uso de rotavírus vivos atenuados em indivíduos sob estado de depressão imunológica (os infectados pelo HIV, por exemplo) também reserva restrições, aspecto a requerer elucidação premente. Múltiplas outras questões emergem com nitidez, no limiar temporal que ora nos leva ao advento de pelo menos duas vacinas contra rotavírus. Nos ministérios da saúde dos países em desenvolvimento, os custos e a sustentabilidade de um proposto programa universal para imunização contra rotavírus prevalecem como temas centrais. Aliás, ressalte-se o papel de vanguarda assumido pelo Ministério da Saúde no Brasil, assegurando o acesso amplo da vacina contra rotavírus no setor público já em 2006<sup>34</sup>. Estudos sobre o impacto econômico, possível transferência tecnológica a alguns países para eventual produção "regionalizada" da vacina e trabalho educativo que enseje a plena percepção quanto à importância do imunizante também configuram desafios relevantes. Paralelamente, impõe-se a expansão das redes de vigilân-

cia sistemática, das quais advirão dados fidedignos e representativos quanto ao real impacto promovido pelos rotavírus e pela própria vacina quando disponível para a população em geral.

A respeito das vacinas profiláticas contra o HPV, dadas as dificuldades na implementação de programas de rastreamento, que, além das questões técnicas e políticas, esbarram em questões socioculturais e comportamentais, consideramos que uma vacina de alta eficácia contra HPV poderia ter, em médio e longo prazos, um impacto real e mais expressivo nas taxas de câncer do colo do útero (e de lesões pré-malignas), as quais, no Brasil, continuam estabilizadas em valores muito elevados. Por ser uma infecção de transmissão sexual, as vacinas profiláticas devem ser administradas em idade anterior ao primeiro coito. Isso implicaria em vacinar crianças/adolescentes de ambos os sexos. Também é razoável considerar a vacinação de mulheres grávidas, mas esses estudos ainda não foram iniciados. Entretanto, a faixa etária ideal para vacinação depende de uma série de fatores, incluindo o tempo de proteção (longevidade da resposta imune), que ainda está sendo avaliado pelos ensaios clínicos em andamento (os de seguimento mais prolongado remontam a 4 anos). De qualquer maneira, é razoável supor que, à implementação progressiva da vacinação contra HPV, poderá ser observada alteração na periodicidade do exame de Papanicolaou. A expectativa para as próximas décadas, no entanto, é que a prevenção do câncer do colo do útero continue sendo baseada no rastreamento periódico da população através do teste de Papanicolaou, isoladamente ou em conjunto com testes de detecção molecular de HPV, o agente etiológico desses tumores. Em conclusão, vacinas efetivas e seguras contra HPV poderiam ser importantes instrumentos de prevenção de câncer do colo do útero em todo o mundo, particularmente nos países em desenvolvimento. A expectativa é que em 10 a 20 anos possa ocorrer redução das taxas de incidência das lesões precursoras desse câncer e, paulatinamente, a redução do câncer que é a segunda causa de morte de mulheres por neoplasias em todo o mundo.

### Conflitos de interesse

Alexandre C. Linhares declara que proferiu algumas palestras sobre a vacina contra rotavírus em simpósios nacionais promovidos pela GlaxoSmithKline Biologicals (GSK), Rixensart, Bélgica. Além disso, atuou como investigador principal dos estudos de fases II e III envolvendo a amostra RIX4414 (nome comercial: Rotarix), cumprindo o que preconizavam os protocolos específicos. Para o desenvolvimento desses estudos, o Instituto Evandro Chagas, SVS, Ministério da Saúde, mediante acordo financeiro com a GSK e fundação local, recebeu recursos financeiros estritamente destinados à contratação de pessoal externo, a insumos, serviços de terceiros e alguns equipamentos. Luisa Lina Villa declara ser consultora da Merck, Sharp & Dohme e ter proferido várias palestras sobre seu programa clínico envolvendo a vacina quadrivalente de HPV (Gardasil).

### Referências

1. Linhares AC, Bresee JS. Rotavirus vaccines and vaccination in Latin America. *Rev Panam Salud Publica*. 2000;8:305-31.
2. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:565-72.
3. World Health Organization. Report of the meeting on future direction for rotavirus vaccine research in developing countries. Geneva: WHO; 2000.
4. Glass RI, Bresee JS, Parashar U, Turcios R, Fischer T, Jiang B, et al. Rotavirus vaccines: past, present, and future. *Arch Pediatr*. 2005;12:844-7.
5. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM, Pérez-Schael I. Efficacy of a quadrivalent rhesus rotavirus-based human rotavirus vaccine aimed at preventing severe rotavirus diarrhea in infants and young children. *J Infect Dis*. 1996;174 Suppl 1:S65-72.
6. Joensuu J, Koskeniemi E, Pang XL, Vesikari T. Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe gastroenteritis. *Lancet*. 1997;350:1205-9.
7. Perez-Schael I, Guntiñas MJ, Perez M, Pagone V, Rojas AM, González R, et al. Efficacy of the rhesus rotavirus-based quadrivalent vaccine in infants and young children in Venezuela. *N Engl J Med*. 1997;337:1181-7.
8. Lanata CF, Midthun K, Black RE, Butron B, Huapaya A, Penny ME, et al. Safety, immunogenicity, and protective efficacy of one and three doses of tetravalent rhesus rotavirus vaccine in infants in Lima, Peru. *J Infect Dis*. 1996;174:268-75.
9. Linhares AC, Gabbay YB, Mascarenhas JD, de Freitas RB, Oliveira CS, Bellesi N, et al. Immunogenicity, safety and efficacy of tetravalent rhesus-human, reassortant rotavirus vaccine in Belem, Brazil. *Bull World Health Organ*. 1996;74:491-500.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine – United States, 1998-1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1999;48:577-81.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Withdrawal of rotavirus vaccine recommendation. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1999;48:1007.
12. Peters G, Myers MG; National Vaccine Advisory Committee, National Vaccine Program Office. Intussusception, rotavirus, and oral vaccine: summary of a workshop. *Pediatrics*. 2002;110:e67.
13. Simonsen L, Viboud C, Elixhauser A, Taylor RJ, Kapikian AZ. More on RotaShield and intussusception: the role of age at the time of vaccination. *J Infect Dis*. 2005;192 Suppl 1:S36-43.
14. Clark HF, Bernstein DI, Dennehy PH, Offit P, Pichichero M, Treanor J, et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of a live, quadrivalent human-bovine reassortant rotavirus vaccine in healthy infants. *J Pediatr*. 2004;144:184-90.
15. Velázquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero L, Morrow AL, Carter-Campbell S, et al. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med*. 1996;335:1022-8.
16. Glass RI, Bresee JS, Parashar UD, Jiang B, Gentsch J. The future of rotavirus vaccines: a major setback leads to new opportunities. *Lancet*. 2004;363:1547-50.
17. Heaton PM. Phase III evaluation of the Merck bovine rotavirus vaccine [abstract]. In: 6th International Rotavirus Symposium; 2004; Mexico.
18. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodríguez Z, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med*. 2006;354:23-33.
19. Bernstein DI, Smith VE, Sherwood JR, Schiff GM, Sander DS, DeFeudis D, et al. Safety and immunogenicity of live, attenuated human rotavirus vaccine 89-12. *Vaccine*. 1998;16:381-7.
20. Bernstein DI, Sack DA, Rothstein E, Reisinger K, Smith VE, O'Sullivan D, et al. Efficacy of live, attenuated, human rotavirus vaccine 89-12 in infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 1999;354:287-90.
21. Bernstein DI, Sack DA, Reisinger K, Rothstein E, Ward RL. Second-year follow-up evaluation of live, attenuated human rotavirus vaccine 89-12 in healthy infants. *J Infect Dis*. 2002;186:1487-9.
22. De Vos B, Vesikari T, Linhares AC, Salinas B, Pérez-Schael I, Ruiz-Palacios GM, et al. A rotavirus vaccine for prophylaxis of infants against rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23(10 Suppl):S179-82.

23. Vesikari T, Karvonen A, Korhonen T, Espo M, Lebacqz E, Forster J, et al. Safety and immunogenicity of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in adults, toddlers and previously uninfected infants. *Vaccine*. 2004;22:2836-42.
24. Vesikari T, Karvonen A, Puustinen L, Zeng SQ, Szakal ED, Delem A, et al. Efficacy of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in Finnish infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:937-43.
25. Linhares AC, Ruiz-Palacios GM, Guerrero ML, Salinas B, Pérez-Schael I, Clemens S-A, et al. A short report on highlights of world-wide development of RIX4414: a Latin American experience. *Vaccine*. 2005. In press.
26. Phua KB, Quak SH, Lee BW, Emmanuel SC, Goh P, Han HH, et al. Evaluation of RIX4414, a live, attenuated rotavirus vaccine, in a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial involving 2464 Singaporean infants. *J Infect Dis*. 2005;192 Suppl 1:S6-16.
27. Salinas B, Pérez-Schael I, Linhares AC, Ruiz-Palacios GM, Guerrero ML, Yarzabal JP, et al. Evaluation of safety, immunogenicity and efficacy of an attenuated rotavirus vaccine, RIX4414. A randomized, placebo-controlled trial in Latin American infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24:807-16.
28. Ruuska T, Vesikari T. Rotavirus disease in Finnish children: use of numerical scores for clinical diarrhoeal episodes. *Scand J Infect Dis*. 1990;22:259-67.
29. Ruiz-Palacios GM, Pérez-Schael I, Velazquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SA, et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med*. 2006;354:11-22.
30. Clements-Mann ML, Dudas R, Hoshino Y, Nehring P, Sperber E, Wagner M, et al. Safety and immunogenicity of live attenuated quadrivalent human-bovine (UK) reassortant rotavirus vaccine administered with childhood vaccines to infants. *Vaccine*. 2001;19:4676-84.
31. Eichelberger M, Sperber E, Wagner M, Hoshino Y, Dudas R, Hodgins V, et al. Clinical evaluation of a single oral dose of human-bovine (UK) reassortant rotavirus vaccines Wa x UK (P1A[8],G6) and Wa x (DS-1 x UK) (P1A[8],G2). *J Med Virol*. 2002;66:407-16.
32. Kapikian AZ, Simonsen L, Vesikari T, Hoshino Y, Morens DM, Chanock RM, et al. A hexavalent human rotavirus-bovine rotavirus (UK) reassortant vaccine designed for use in developing countries and delivered in a schedule with the potential to eliminate the risk of intussusception. *J Infect Dis*. 2005;192 Suppl 1:S22-9.
33. Hoshino Y, Jones RW, Ross J, Kapikian AZ. Porcine rotavirus strain Gottfried-based human rotavirus candidate vaccines: construction and characterization. *Vaccine*. 2005;23:3791-9.
34. Rotavirus Update from PATH's Rotavirus Vaccine Program. [http://www.rotavirusvaccine.org/Rota\\_Newsletter\\_Oct2005.html](http://www.rotavirusvaccine.org/Rota_Newsletter_Oct2005.html). Acesso: 03/2006.
35. Ferlay J, Bray F, Pisani P. *Globocan 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, version 2.0: IARC CancerBase no. 5*. Lyon: IARC Press; 2004.
36. Bosch FX, Sanjose S. Human papillomavirus in cervical cancer. *Curr Oncol Rep*. 2002;4:175-83.
37. Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, et al. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol*. 2004;103:304-9.
38. Bonnez W, Reichman R. Papillomaviruses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. 6th ed. New York: Churchill Livingstone; 2005. p. 1841-51.
39. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Désy M, et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis*. 1999;180:1415-23.
40. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA*. 2001;286:3106-14.
41. Schiller JT, Lowy DR. Human papillomavirus vaccines. In: Plotkin S, Orenstein WA. *Vaccines*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2004. p. 1259-65.
42. Stanley MA. Human papillomavirus vaccines. *Curr Opin Mol Ther*. 2002;4:15-22.
43. Gissmann L, Osen W, Muller M, Jochmus I. Therapeutic vaccines for human papillomaviruses. *Intervirology*. 2002;44:167-75.
44. Villa LL. Prophylactic HPV vaccines: reducing the burden of HPV-related diseases. *Vaccine*. 2005. [Epub ahead of print] [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list\\_uids=16194583&query\\_hl=1&itool=pubmed\\_docsum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16194583&query_hl=1&itool=pubmed_docsum). Acesso: 17/04/2006.
45. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB, et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med*. 2002;347:1645-51.
46. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D, Schuid A, et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;364:1757-65.
47. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Ault KA, Giuliano AR, et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol*. 2005;6:271-8.

## Correspondência:

Luisa Lina Villa  
 Rua Prof Antonio Prudente 109, 4º andar  
 CEP 01509-010 – São Paulo, SP  
 E-mail: llvilla@ludwig.org.br