

## Vaccines under development: group B streptococcus, herpes-zoster, HIV, malaria and dengue

*Vacinas em desenvolvimento: estreptococo do grupo B, herpes-zóster, HIV, malária e dengue*

Luiz Jacintho da Silva<sup>1</sup>, Rosana Richtmann<sup>2</sup>

### Resumo

**Objetivos:** As vacinas contra o estreptococo B, o herpes-zóster, o HIV, a malária e a dengue, selecionadas por critérios de comercialização iminente ou devido a problemas específicos para sua obtenção, foram objeto de uma revisão sobre o estado atual do seu desenvolvimento.

**Fontes dos dados:** Foi realizada revisão da literatura através da MEDLINE no período de 1996 a 2006, sobre a epidemiologia e imunologia das doenças, analisando tanto os maiores problemas para a obtenção de uma vacina como o estado atual dos estudos, com ênfase para os que estavam em fase mais adiantada.

**Síntese dos dados:** Cada uma das cinco doenças escolhidas apresenta problemas específicos para o desenvolvimento de uma vacina. No entanto, a maioria deles já foi ou está em vias de ser resolvido, permitindo prever que uma vacina – ou vacinas – eficaz e segura estará disponível em futuro próximo.

**Conclusões:** Apesar dos problemas enfrentados para o desenvolvimento dessas vacinas, os avanços da biologia molecular e da imunologia permitiram superar a maioria deles, abrindo a perspectiva para a obtenção de novas vacinas.

*J Pediatr (Rio J). 2006;82(3 Supl):S115-24: Estreptococo B, herpes-zóster, malária, dengue, AIDS, HIV, vacina.*

### Introdução

Entre as inúmeras vacinas em desenvolvimento, foram selecionadas cinco, tanto por sua comercialização ser iminente, como por apresentarem problemas específicos para sua obtenção. As vacinas contra o estreptococo B, o herpes-zóster, o vírus da imunodeficiência humana (HIV), a malária e a dengue foram selecionadas por estarem todas sendo

### Abstract

**Objectives:** To review the current state of development of streptococcus B, herpes-zoster, HIV, malaria and dengue vaccines. These vaccines were selected both because of imminent commercial release and because of specific problems with their development.

**Sources of data:** A review of the literature was performed by means of a MEDLINE search, on the period 1996 to 2006, for the epidemiology and immunology of these diseases, analyzing both the greatest obstacles to creating a vaccine and the current state of research, with emphasis on studies in the most advanced stages.

**Summary of the findings:** Each of the five diseases chosen presents specific problems for vaccine development. Nevertheless, in the majority of cases these have been or are in sight of being resolved, allowing for the prediction that a safe and effective vaccine – or vaccines – will be available in the near future.

**Conclusions:** Despite the problems faced in developing these vaccines, advances in molecular biology and immunology have made it possible to overcome most obstacles, opening up the prospects for new vaccines.

*J Pediatr (Rio J). 2006;82(3 Supl):S115-24: Streptococcus B, herpes-zoster, malaria, dengue, AIDS, HIV, vaccine.*

submetidas a ensaios clínicos de fase III. Cada uma das cinco doenças apresenta um significativo fardo em saúde pública, e cada uma das vacinas apresenta problemas que foram, e ainda são, de solução difícil e complexa. Algumas, como a vacina da malária, já se encontram em desenvolvimento há décadas.

Se os resultados dos estudos de fase III forem adequados, com certeza essas vacinas estarão disponíveis em curto espaço de tempo, com exceção, talvez, da vacina contra o HIV, que ainda apresenta obstáculos de difícil transposição.

### Vacina contra o estreptococo do grupo B

A doença invasiva pelo estreptococo do grupo B (*Streptococcus agalactiae*, EGB) continua sendo a principal causa de morte e morbidade nos recém-nascidos (RN) e lactentes

1. Professor titular, Disciplina de Infectologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP.

2. Médica infectologista, Instituto de Infectologia Emilio Ribas, São Paulo, SP. Diretora, Departamento de Infectologia, Hospital e Maternidade Santa Joana / Pro Matre Paulista, São Paulo, SP. Doutora, Universität Freiburg, Freiburg, Deutschland.

**Como citar este artigo:** da Silva LJ, Richtmann R. Vaccines under development: group B streptococcus, herpes-zoster, HIV, malaria and dengue. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(3 Supl):S115-24.

juvenis. O EGB é a principal causa de sepse precoce bacteriana neonatal<sup>1,2</sup>. Cerca de 80% das infecções são adquiridas via canal de parto. Estudos realizados nos EUA identificaram, em 25 a 40% das gestantes sadias, colonização pelo EGB na região ano-genital<sup>3</sup>. Uma das medidas mais efetivas na prevenção da sepse precoce neonatal pelo EGB foi a instituição de antibiótico intraparto, como sugerida e recomendada pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) desde 1996<sup>4</sup>. Apesar dessa recomendação, ainda ocorrem nos EUA cerca de 2.500 casos de infecção pelo EGB, com aproximadamente 100 mortes ao ano<sup>5</sup>. O uso de antibiótico intraparto levou à diminuição de cerca de 75% dos casos de sepse precoce causada pelo EGB, porém não exerceu nenhuma influência preventiva na incidência de sepse tardia. Mais da metade dos casos de sepse precoce pelo EGB ocorre na primeira semana de vida do RN, com letalidade entre 25 a 50%. A grande discussão sobre o uso de antibiótico intraparto para as gestantes colonizadas pelo EGB é o rápido desenvolvimento de cepas resistentes de EGB à penicilina, droga usada nessa profilaxia<sup>4</sup>.

Acredita-se que o desenvolvimento de vacina específica contra o EGB seja a única solução efetiva na prevenção dessa infecção tão importante, prevalente e letal nos RN, além de minimizar o impacto da resistência bacteriana desse microorganismo e possivelmente evitar óbito fetal e prematuridade relacionadas a esse germe.

### **O desenvolvimento da vacina**

A racionalidade por trás do desenvolvimento de uma vacina contra EGB é que o risco de infecção neonatal pelo EGB é inversamente proporcional à quantidade de anticorpos maternos específicos contra o antígeno polissacarídeo capsular (PC) que envolve o EGB. Acredita-se que a presença de imunoglobulinas da classe IgG no RN seja decorrente da sua passagem transplacentária, determinando proteção temporária do RN<sup>6</sup>. O desenvolvimento de uma vacina efetiva poderia levar teoricamente a uma diminuição real do número de casos de sepse precoce e tardia pelo EGB.

Em 1970, Baker et al.<sup>7</sup> já previam a atividade protetora dos anticorpos contra o PC do EGB tipo III, verificando que RN cujas mães possuíam baixos níveis de anticorpos anti-PC tipo III específicos apresentavam maior incidência de doença invasiva pelo EGB precoce e tardia. A partir dessa premissa, acreditou-se que, havendo quantidade suficiente de anticorpos específicos no soro humano contra o antígeno capsular polissacarídico do EGB, o indivíduo estaria protegido, pois estes apresentavam adequada opsonização e fagocitose. Baseado no exemplo da vacina polissacarídica contra o pneumococo, imaginou-se que, ao se desenvolver uma vacina com anticorpos contra o PC do EGB para a gestante, estaríamos prevenindo a doença nos RN, por passagem transplacentária de anticorpos protetores. O melhor momento para a aplicação dessa vacina seria no terceiro trimestre da gestação, para atingir nível sérico de anticorpos e passagem transplacentária para proteção do RN. A primeira tentativa foi a vacina específica contra o sorotipo PC tipo III, seguida de outras tentativas com sorotipos PC tipo I

e II (esses estudos iniciais conseguiram resposta imunogênica em apenas 40 a 60% dos imunizados)<sup>8</sup>. A resposta imunológica para o sorotipo II foi melhor (88%).

Em 1988, Baker et al. desenvolveram um programa de vacinação em gestantes. A resposta humoral ao PC tipo III nas gestantes que receberam a vacina no terceiro trimestre de gestação, em torno da 31ª semana, foi de 90%, ou seja, havia a presença *in vitro* de anticorpos no soro dos RN com função protetora (opsonização e morte bacteriana), detectada até 3 meses de vida do RN<sup>9</sup>. Este foi um marco na ciência sobre a real possibilidade de imunizar a gestante e proteger o conceito contra o EGB.

Recentemente, houve a detecção de aumento da prevalência de doença invasiva pelo EGB por outros sorotipos diferentes do I, II e III, sendo o sorotipo V o mais emergente. Lamentavelmente, dispomos no nosso meio de poucos dados sobre a epidemiologia e a prevalência dos sorotipos de EGB causadores de doença invasiva. Diante dessa alteração epidemiológica, notou-se a necessidade de vacinas mais abrangentes, que incluam vários sorotipos. Estima-se que uma vacina multivalente abrangendo os sorotipos Ia, Ib, II, III e V, poderá virtualmente proteger 100% dos casos da doença em lactentes e adultos<sup>10</sup>.

A partir dessa constatação, desenvolveu-se a primeira vacina conjugada do EGB tipo III PC com toxóide tetânico, como proteína carreadora. Os resultados com essa nova vacina em gestantes demonstraram proteção de até 90% quando comparados com o grupo placebo<sup>11</sup>.

Desde 1996, várias novas vacinas conjugadas específicas contra os sorotipos mais importantes de doença pelo EGB têm sido testadas. As vacinas, de forma geral, são bem toleradas, aplicadas nas gestantes em uma ou duas doses, por via intramuscular. O evento adverso mais comum relatado é dor e sensibilidade no local de aplicação da vacina. De 500 voluntárias testadas, apenas 2% delas apresentaram sintomas, como febre baixa, cefaléia, calafrios ou mialgia, que se resolveram em 24 a 48 horas. A resposta imune aos diferentes sorotipos da vacina conjugada é dose-dependente, com exceção ao sorotipo V. Doses como 4 µg do PC tipo II, 10 µg para o tipo V, 15 µg para os sorotipos Ia, Ib, e III resultaram em aumento do título de anticorpos específicos de quatro vezes em 80 a 93% das voluntárias testadas num intervalo de 8 semanas pós-imunização. O pico de anticorpos foi detectado entre 4 e 8 semanas pós-vacinação, seguido de um declínio, sendo que, 1 ano após a vacinação, havia queda de 50% dos títulos de anticorpos específicos para o EGB; porém, a exemplo de outras vacinas conjugadas, mantinha proteção por período prolongado.

A vacina ideal seria uma vacina conjugada pentavalente. Já foi desenvolvida e testada uma vacina bivalente (II-TT e III-TT) conjugada combinada com boa tolerabilidade e imunogenicidade<sup>12</sup>. Do mesmo modo, em relação ao sorotipo V, também foi desenvolvida e testada vacina conjugada com TT e outra com mutante da toxina diftérica (CRM<sub>197</sub>)<sup>13</sup>. Houve boa tolerância a ambas vacinas, e não houve diferença estatisticamente significativa em termos de resposta imune entre elas.

Tudo que precisa ser testado em larga escala em gestantes enfrenta um debate ético científico<sup>14</sup>. Vários questionamentos, porém, ainda pairam em relação à vacina contra o EGB: Qual o número de doses ideal? Há necessidade de reforços? Qual sua real proteção na prática clínica? Quando conseguiremos desenvolver uma vacina pentavalente? Como aprovar e testar essa vacina em larga escala? Será possível e eficaz vacinar mulheres não gestantes em idade fértil?

### **Vacina contra o herpes-zóster**

Estudos recentes mostraram a eficácia e a segurança de uma vacina contra o herpes-zóster<sup>15</sup>. Estima-se que, nos EUA, ocorram anualmente cerca de 1 milhão de casos da doença. A importância dessa nova vacina está diretamente relacionada com o provável aumento da incidência de zóster com o passar das décadas, devido ao aumento da longevidade da população, assim como o uso mais freqüente de drogas e terapêuticas imunossupressoras.

O zóster está associado a complicações como neuralgia pós-herpética (PHN), oftalmite herpética, miocardite, parestesias, miopatias, entre outras. O manejo e tratamento dessas complicações ainda estão muito distantes do aceitável.

### **Epidemiologia**

A manifestação clínica da reativação do vírus varicela-zóster (VVZ) latente pode ocorrer após décadas da primoinfecção, causando um profundo efeito na qualidade de vida do paciente com a morbidade associada à doença. Estudos epidemiológicos mostram que a incidência anual de herpes-zóster é de 2,9/1.000 nos EUA<sup>16</sup>, 4,6/1.000 na Islândia<sup>17</sup>, 4,0/1.000 na Itália<sup>18</sup> e 4,8/1.000 na França<sup>19</sup>.

Não há dados nacionais, pois a doença não é de notificação compulsória. No estudo italiano, cerca de 50% dos casos ocorreram em indivíduos acima de 65 anos, e mais de 75% dos casos em pessoas acima de 50 anos. Há uma forte relação da incidência de herpes-zóster e idade avançada, chegando a números como 10/1.000 por ano na população que está na oitava década de vida<sup>20</sup>. Teoricamente, a tendência é de aumento do número de casos, visto que tanto a longevidade quanto o número de pacientes imunocomprometidos estão aumentando. O manejo da doença e de suas complicações ainda deixa muito a desejar<sup>21</sup>.

As reexposições ao VVZ parecem proteger contra o zóster, seja através do contato com crianças infectadas com o vírus natural ou através de revacinação<sup>22</sup>. Células de memória de CD4 e CD8 que reconhecem o VVZ estão presentes nos adultos jovens, tornando a doença muito rara nesses indivíduos imunocompetentes. Nos pacientes imunocomprometidos, a perda de linfócito T específico do VVZ pode significar susceptibilidade temporária à reativação do VVZ.

Com a imunização crescente das crianças contra o VVZ, haverá uma diminuição da circulação do vírus selvagem na população, podendo levar a um aumento do número de casos de zóster na população idosa, não mais sendo subme-

tida a *boosters* naturais na idade avançada. Ainda não dispomos de dados concretos sobre esse impacto, mesmo na população com alta prevalência de crianças vacinadas contra a varicela.

### **A infecção e o vírus**

Zóster, vulgarmente denominado "cobreiro", é caracterizado por dor unilateral radicular acompanhada de exantema vesicular, geralmente limitado a um único dermatomo. O zóster é resultante da reativação do VVZ latente do gânglio sensorial. O diagnóstico da doença é habitualmente clínico. O tratamento consiste no uso de drogas antivirais (anti-VVZ) iniciadas até, no máximo, 72 horas após o início dos sintomas, com a finalidade de reduzir a extensão da doença, o tempo de evolução e, se possível, a principal complicação: a PHN<sup>23-25</sup>. As complicações podem estar presentes em mais de 50% dos casos da doença. A neuralgia, complicação mais freqüente e temida, é uma síndrome neuropática dolorosa, que pode surgir após a resolução do exantema e persistir por muito tempo. Quanto maior a idade do paciente, maior será o risco e a intensidade de complicações. A PHN pode persistir por anos, inclusive por toda vida. A resposta aos tratamentos recomendados atualmente é bastante limitada. O uso de antivirais na terapêutica do episódio agudo de zóster diminui o tempo e a extensão da doença, porém não previne a neuralgia.

### **Desenvolvimento de uma nova vacina**

O estado imunológico do idoso, com perda progressiva da imunidade mediada por células, predispõe a infecções pelo VVZ. Assim, quanto menor a imunidade celular, seja pela idade ou por doenças imunossupressoras, como a AIDS, maior será a incidência de zóster. Diante desses dados, o *Shingles Prevention Study* conduziu um grande e importante estudo com a finalidade de estabelecer o impacto de uma vacina contra zóster. O estudo teve por objetivo estudar a redução da dor e do desconforto relacionados à doença, o impacto sobre a sua incidência como um todo, além de medir a freqüência de complicações, como a PHN, em uma população idosa<sup>26</sup>. Oxman et al. conduziram o principal estudo até hoje publicado com a vacina contra zóster<sup>26</sup>. Partiram da hipótese de que uma vacina contra zóster iria diminuir a incidência e gravidade da doença e da PHN em uma população adulta. Trata-se de um estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado, com 38.546 indivíduos adultos acima de 60 anos de idade. Usou-se a vacina de vírus vivo atenuado Oka/Merck®, com dose única de injeção subcutânea de 0,5 mL ou placebo. A potência estimada da vacina utilizada nesse estudo variou de 18.700 a 60.000 unidades formadoras de placas (UFP) por dose, que foram divididos em 12 lotes diferentes. A média da potência da vacina utilizada foi de 24.600 UFP, no mínimo 12 vezes maior (variando de 10 a 30 vezes) que a potência da vacina usada desde 1995 de rotina em crianças contra a varicela (Oka/Merck® - Varivax® com mínimo de 1.350 UFP/dose). O objetivo primário do estudo foi avaliar o impacto da doença (zóster), através de composição de

incidência, gravidade e duração da dor associada ao zóster. O objetivo secundário foi avaliar a incidência de PHN. O seguimento da população estudada foi em média de 3,12 anos, variando de um dia a 4,90 anos, sem diferença entre o grupo vacinado e o grupo placebo. Foram excluídos do estudo pacientes imunodeprimidos. A média da idade em ambos grupos foi de 69 anos, sendo 6,6% do grupo vacinado e 6,9% do grupo placebo  $\geq$  80 anos de idade, respectivamente. Durante o seguimento do estudo, ocorreram um total de 957 casos confirmados de zóster, 315 no grupo vacinado e 642 no grupo placebo ( $p < 0,001$ ). Em 93% de todos os casos de zóster, houve a confirmação da doença através da pesquisa do VVZ por técnica de PCR. O DNA do vírus vacinal não foi detectado em nenhum caso. O emprego de antivirais adequados nos casos de zóster em ambos grupos foi semelhante. Ocorreram 107 casos de PHN, sendo 27 no grupo vacinado e 80 no grupo placebo. O uso da vacina contra zóster reduziu o impacto da doença em termos de dor e desconforto associados ao zóster em 61,1% ( $p < 0,001$ ), reduziu a incidência da doença em 51% e reduziu a incidência de PHN em 66,5% ( $p < 0,001$ ). Na avaliação estratificada por faixa etária (60-69 anos e maiores de 70 anos), a redução do impacto da doença foi de 65% no grupo 60-69 anos e 55% no grupo acima de 70 anos.

Em relação a eventos adversos relacionados à vacina contra zóster, ocorreu um número bem maior no grupo vacinado quando comparado com o grupo placebo, sendo a reação local a mais comum, geralmente leve.

### Expectativas futuras

Com o uso progressivo e universal da vacina contra o VVZ nas crianças, a circulação do vírus selvagem provavelmente irá diminuir. A implicação prática é que a população adulta e idosa será exposta ao VVZ menos freqüentemente e, portanto, terá menor oportunidade de *booster* natural, com conseqüente menor imunidade celular e anticorpos específicos contra o VVZ.

Outro aspecto a ser salientado é que a expectativa de vida está em franca expansão. Estima-se que a população acima de 85 anos nos EUA aumentou em cerca de 1 milhão de 1995 a 2005, e que a população de idosos entre 60 e 85 anos aumentou ainda mais nesse mesmo período. O *Census Bureau* dos EUA estima que, em 2040, haverá de 8 a 13 milhões de norte-americanos com idade acima de 85 anos<sup>27</sup>.

Vários questionamentos importantes sobre a vacina e a doença ainda restam. Será que a vacina testada e desenvolvida recentemente poderá ser usada nos pacientes imunocomprometidos, com segurança e eficácia? Qual será a duração da proteção e a necessidade de doses suplementares? Será que a população que recebeu a vacina contra a varicela na infância terá menos zóster na idade adulta? Será que a vacina contra zóster será viável do ponto de vista econômico? Qual será a real quantidade de UFP necessárias na vacina<sup>28</sup>?

Essa vacina já foi submetida à aprovação pelo Food and Drug Administration (FDA) através do laboratório Merck®, sendo que, caso seja aprovada, há estimativa de prevenção de 250 mil casos de zóster nos EUA por ano,

além da redução da severidade e morbidade da doença em outros 250 mil casos ao ano.

### Vacina contra o HIV

Uma vacina contra o HIV, mesmo que parcialmente efetiva ou que apenas retardasse a progressão para a AIDS, seria de um enorme valor<sup>29,30</sup>. A introdução da terapia anti-retroviral altamente efetiva (HAART) na segunda metade da década de 1990 representou um significativo progresso no controle da pandemia, porém ainda persistem problemas de tolerância, desenvolvimento de resistência e adesão, além do custo elevado<sup>31,32</sup>.

### Problemas para o desenvolvimento de uma vacina

Existem no momento cerca de 30 vacinas contra a AIDS em ensaios clínicos em humanos<sup>31,33</sup>. Apesar desse esforço considerável, o desenvolvimento de uma vacina contra a AIDS encontra sérias dificuldades, sendo a principal a ausência de um modelo de imunidade contra o HIV. A imensa maioria das pessoas expostas ao vírus adquire a infecção e desenvolve a doença. O mecanismo pelo qual isso ocorre ainda não é suficientemente conhecido, fazendo com que as abordagens tradicionais para o desenvolvimento de vacinas não tenham atingido resultados satisfatórios<sup>34,35</sup>.

Não obstante os problemas, existe um interesse crescente em se obter uma vacina eficaz e segura, estimando-se em pouco mais de US\$ 680 milhões o investimento anual para a obtenção de uma vacina<sup>29,31,36</sup>.

Além da complexidade e inadequação da resposta imune natural contra o HIV, este apresenta uma variabilidade genética muito grande, uma elevada velocidade de replicação e uma alta taxa de mutações, dificultando o desenvolvimento de uma vacina<sup>37-39</sup>.

### O HIV e a resposta imune

As diferentes cepas e variantes do HIV-1 são classificadas em três grupos principais: M (*main*), O (*outlier*) e N (*new*), cada grupo subdividido em subtipos ou clades. O grupo M, o principal, é subdividido em clades de A a J. Uma clade (do grego *klados*, ramo) é constituída de variantes fenotípicas e genotípicas do vírus. A homologia genética entre diferentes clades é de aproximadamente 60%. Diferentes regiões do mundo apresentam predomínio de diferentes clades. Além dessa diversidade, o HIV apresenta uma elevada taxa de mutações, determinadas pela ausência de mecanismos de correção de erros de replicação do seu RNA. Isso determina um grande número de variantes, inclusive em um único indivíduo<sup>37-39</sup>.

O HIV é composto de um envelope externo que envolve uma nucleocápside com RNA, que determina a formação das proteínas e glicoproteínas estruturais e das três enzimas, protease, transcriptase reversa e integrase. As glicoproteínas e proteínas estruturais, particularmente as externas, como gp120, gp41 e p24, são exemplos de alvos primários da resposta imune inicial. A fusão do vírus com a célula exige interação entre a gp120 e os

receptores CXCR4 e CCR5 e CD4. Essa ligação, juntamente com a ligação com co-receptores, determina alterações de conformação que permitem que a gp41 se funda com a membrana da célula, permitindo a entrada do vírus. Uma vez no interior da célula, o RNA viral produz DNA que se integra ao DNA da célula, permitindo a produção do HIV pelo restante da vida da célula. As primeiras células a serem infectadas são as células imunes locais, como as dendríticas e monócitos. Infectadas, essas células migram para os linfonodos, onde o HIV irá infectar os linfócitos T CD4<sup>+</sup>. Apesar de uma resposta imune intensa, o HIV é capaz de resistir erradicação e passa a destruir os linfócitos T CD4<sup>+</sup>, com conseqüente imunossupressão e evolução para AIDS clinicamente manifesto<sup>34,39</sup>.

Apesar da semelhança com infecção de macacos pelo SIV, este não tem se mostrado um modelo animal prático para o estudo de uma vacina<sup>40-42</sup>.

Outro objeto de investigação são os indivíduos que, não obstante expostos ao HIV, não adquirem a infecção, assim como indivíduos que, infectados, não progridem para imunossupressão.

### **Estratégias para o desenvolvimento de uma vacina**

#### *Estratégias tradicionais*

As estratégias tradicionais para o desenvolvimento de vacinas não se mostraram eficazes ou viáveis com relação ao HIV. A inadequação da resposta imune e a gravidade da doença impedem o uso de vírus vivos atenuados, e o uso de vírus inativado não se mostrou capaz de induzir uma resposta imune adequada.

O uso de parte ou partes do vírus obtidas por recombinação ou por inativação e fracionamento do vírus tem sido amplamente adotado, porém sem sucesso até o momento. Entretanto, os ensaios clínicos com vacinas subunitárias não lograram êxito. Várias abordagens estão sendo utilizadas para o desenvolvimento de vacinas contra o HIV e AIDS<sup>33,35,40</sup>.

#### *Vacinas subunitárias*

As vacinas subunitárias contra o HIV são desenvolvidas a partir de proteínas recombinantes derivadas de proteínas de superfície (envelope) de cepas laboratoriais do HIV, visando estimular imunidade humoral específica.

Diversas proteínas e genes do HIV já foram avaliados, incluindo os genes e proteínas estruturais (*gag*, *env*, gp120, gp41 e gp160), enzimas virais (*pol*) e proteínas reguladoras (*nef*, *tat*, *rev* e *vpr*). A capacidade dessas proteínas em induzir imunidade humoral ou celular varia imensamente, mas os resultados foram desanimadores, ainda que tenham conseguido estimular a formação de anticorpos neutralizantes. No momento, buscaram-se vacinas que tenham a estrutura tridimensional do vírus, a exemplo da vacina contra o HPV.

A vacina recombinante que obteve maior repercussão, ainda que os resultados dos ensaios clínicos de fase II tenham sido desanimadores, é a AIDSVAX®, utilizando a

proteína gp120 com versões diferentes para diferentes clades<sup>33,35,40</sup>.

#### *Peptídeos sintéticos*

Peptídeos sintéticos são fragmentos imunogênicos de proteínas virais, obtidos em laboratório. Os esforços se concentraram em uma porção da proteína gp120, mas, não obstante bem tolerados e com resultados animadores em laboratório, não mostraram imunogenicidade em ensaios clínicos<sup>33,35,40</sup>.

#### *Vacinas de vetor recombinante*

Usualmente utiliza-se um vírus ou bactéria atenuado ou não-patogênico como vetor para genes do HIV que codificam antígenos. As vacinas de vetor recombinante estimulam imunidade humoral e celular e mostram-se como uma das estratégias mais promissoras para o desenvolvimento de vacinas contra o HIV e AIDS.

A utilização do vírus da vaccínia como vetor mostrou-se capaz de induzir imunidade celular e humoral, ainda que esta tenha sido apenas transitória, mas foi capaz de proteger macacos.

As vacinas atualmente em avaliação utilizam o vírus da varíola dos canários (canarypox), uma cepa (Ankara) mais atenuada do vírus da vaccínia (MVA – *modified virus Ankara*), adenovírus, alfavírus (encefalite equina venezuelana, floresta de Semliki e Sindbis), além de bactérias como o bacilo de Calmette-Guérin (BCG), *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* e *Shigella spp*<sup>33,35,40</sup>.

#### *Vacinas de DNA*

Estratégia promissora para o desenvolvimento de vacinas. No entanto, apresenta alguns obstáculos de ordem biológica ainda não resolvidos. São fragmentos de DNA do vírus contendo apenas os genes que codificam algumas proteínas antigênicas, portanto, incapaz de codificar o vírus completo. Quando injetados no organismo, integram-se ao DNA da célula e passam a codificar os antígenos desejados. Há indução de imunidade celular e humoral. Essas vacinas ainda estão em etapas iniciais dos ensaios clínicos<sup>33,35,40</sup>.

#### *Estratégias de indução e reforço (prime-boost)*

Ao antever as dificuldades em induzir imunidade humoral e celular protetoras contra o HIV com as diferentes vacinas até então avaliadas, optou-se por uma estratégia alternativa de combinar vacinas: uma para induzir imunidade celular, de memória, e uma segunda para induzir a formação de anticorpos. Essa estratégia busca potencializar os aspectos positivos de diferentes vacinas. A combinação de vacinas de DNA com vacinas subunitárias ou de vetor recombinante é uma das estratégias sob avaliação<sup>33,35,40</sup>.

#### *Ensaio clínicos em andamento*

Apesar das dificuldades para se conseguir uma vacina eficaz contra o HIV ou para impedir ou mesmo retardar a

evolução da infecção para AIDS, existem várias vacinas em diferentes etapas do processo de avaliação, desde estudos em laboratório, em modelos animais ou mesmo em ensaios clínicos de fase III.

A situação desses estudos é extremamente dinâmica, sendo recomendável consultar *sites* da Internet que mantêm informações atualizadas, como o *HIV Vaccines Trials Network* (<http://www.hvtn.org/>), o *International AIDS Vaccine Initiative* (<http://www.iavi.org/>) e o *Clinical Trials* (<http://www.clinicaltrials.gov/>), este último dos *National Institutes of Health* dos EUA. Esse *site* lista nada menos do que 27.383 estudos em andamento ou já aprovados<sup>8</sup>.

### **Perspectivas**

A pesquisa para uma vacina eficaz já entrou na sua terceira década, e grandes avanços foram feitos, particularmente com relação à compreensão da imunidade natural contra o HIV. A ausência de uma imunidade natural eficaz ainda é o grande obstáculo, mas as lições dos ensaios conduzidos até agora, ainda que muitas vezes frustrantes, indicaram alternativas promissoras, como a estratégia de indução e reforço.

Mesmo uma vacina parcialmente eficaz já seria de grande utilidade em saúde pública, ainda que viesse a gerar questões éticas sobre o seu uso. Graças aos progressos conseguidos com a terapêutica, uma vacina que conseguisse reduzir a carga viral inicial ou mesmo retardar o desenvolvimento da doença, permitindo postergar o início da terapêutica anti-retroviral já seria um avanço<sup>31,41</sup>.

### **Vacinas contra a dengue**

A dengue, juntamente com a malária, é uma das duas mais importantes doenças transmitidas por vetor na atualidade. Os casos de dengue são contabilizados aos milhões a cada ano. Estima-se que cerca de 2/5 da população mundial esteja exposta ao risco de contrair dengue. No Brasil, em 2001, foram notificados quase 400 mil casos de dengue<sup>43,44</sup>.

A extrema adaptação do vetor da dengue, *Aedes aegypti* ao meio urbano e a precária infra-estrutura urbana da maioria das metrópoles e grandes cidades do terceiro mundo virtualmente inviabilizam o controle da dengue, fazendo com que uma vacina seja a única alternativa segura para o controle da doença<sup>45,46</sup>.

### **Problemas para o desenvolvimento de uma vacina**

Utilizar as técnicas tradicionais de desenvolvimento de vacinas para a obtenção de uma vacina eficaz contra a dengue não é grande problema. Já existem outras vacinas eficazes contra outros flavivírus, como a vacina contra a febre amarela, de vírus vivo atenuado e a vacina contra a encefalite japonesa, de vírus inteiro inativado<sup>47</sup>. Várias cepas atenuadas dos quatro sorotipos do vírus da dengue já foram obtidas e avaliadas, mostrando-se imunogênicas e capazes de oferecer proteção<sup>48-50</sup>. O grande problema, no entanto, é a natureza particular da patogenia das formas graves da dengue, com a ocorrência do fenômeno conhecido

como reforço da doença por anticorpos (ADE – *antibody disease enhancement*)<sup>51-53</sup>.

Uma vacina de vírus atenuado ou inativado deverá ser, necessariamente, uma vacina combinada que induza imunidade contra os quatro sorotipos. Esse aspecto particular obriga a realização de estudos pré-clínicos e clínicos mais cuidadosos ou, alternativamente, o desenvolvimento de novas estratégias para a obtenção de vacinas.

### **O vírus da dengue e a resposta imune**

O vírus da dengue é um RNA vírus de filamento único e senso positivo da família *Flaviviridae*. Seu genoma é uma fita única de RNA com um único sítio de início de leitura (ORF). O ORF é traduzido em uma única poliproteína, que é clivada pelas proteases do vírus e da célula infectada em 10 proteínas: três estruturais (C, M e E) e sete não-estruturais (NS 1, NS 2a, NS 2b, NS 3, NS 4a, NS 4b e NS 5)<sup>44,54</sup>.

Existem quatro diferentes sorotipos, DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. O vírion tem aproximadamente 50 nm de diâmetro, e seu genoma tem 11 kb de extensão. Todos os quatro sorotipos já foram seqüenciados<sup>52</sup>.

Cada sorotipo proporciona imunidade permanente específica e imunidade cruzada em curto prazo, e todos os sorotipos podem causar doenças graves e fatais. Existe variação genética dentro de cada sorotipo, com pelo menos cinco genótipos descritos para o sorotipo DEN-1, cinco para o DEN-2, quatro para o DEN-3 e dois para o DEN-4. Algumas variantes genéticas dentro de cada sorotipo parecem ser mais virulentas ou ter maior potencial epidêmico<sup>44,52</sup>. A imunidade após a infecção natural é duradoura, porém tipo-específica.

A estrutura tridimensional da proteína E consiste de um complexo dimérico com duas subunidades idênticas e é subdividida em três regiões distintas:

I - região central da molécula, contendo o radical amina terminal;

II - contém a maior parte dos contatos do dímero;

III - inclui o C terminal e tem relação com a virulência de determinadas cepas virais.

Os anticorpos contra a proteína E são dirigidos a epitópos existentes em toda a superfície externa da molécula. O mecanismo de neutralização relaciona-se com a dissociação do dímero E pela presença do anticorpo, impedindo as alterações de forma que levam à formação dos trímeros da molécula.

A resposta humoral costuma ser vigorosa, anticorpos específicos da classe IgM são detectáveis a partir do quarto dia, após o início dos sintomas, atingindo os níveis mais elevados por volta do sétimo ou oitavo dia, declinando lentamente, passando a não serem detectáveis após alguns meses. As IgG específicas são observadas em níveis baixos a partir do quarto dia após o início dos sintomas, elevam-se atingindo altos teores em 2 semanas e mantêm-se detectáveis por vários anos, conferindo imunidade contra o tipo infectante provavelmente por toda a vida. Anticorpos obtidos durante infecção por um determinado sorotipo de vírus

da dengue protegem da infecção por outros sorotipos, porém essa proteção é de curta duração.

Os anticorpos promovem a lise do envelope ou bloqueio de seus receptores com conseqüente neutralização viral. A proteína E, localizada nas espículas do envelope dos vírus da dengue, é fundamental para a ligação viral ao receptor de membrana. Os epitopos da proteína E definem a produção de anticorpos específicos para o sorotipo viral e para o gênero como um todo e podem ser detectados por diversos testes sorológicos<sup>44,46</sup>.

A resposta imune celular citotóxica por linfócitos T ocorre sob estímulo das proteínas NS1, NS3 e E. Linfócitos T *helper* atuam na presença das células infectadas com dengue que expressam receptores HLA tipo II, produzindo IFN- $\gamma$ , IL-2 e o fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos. Os linfócitos citotóxicos agredem diretamente as células infectadas com dengue que expressam receptores HLA tipo I<sup>52</sup>.

### **Estratégias para o desenvolvimento de uma vacina**

São duas as principais abordagens para o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra os quatro sorotipos do vírus da dengue na atualidade, atenuação e quimera viral com características dos quatro sorotipos<sup>47,50,54</sup>.

#### *Vírus vivo atenuado*

Existem duas vacinas de vírus atenuado em estágio avançado de desenvolvimento. Uma delas foi desenvolvida na Tailândia com três cepas do vírus atenuadas por passagens sucessivas em células primárias de rim de cão (PDK) e a cepa de DEN-3 atenuada por passagens sucessivas em células de macaco verde africano. Essa vacina está sendo desenvolvida pelo laboratório Sanofi-Pasteur®.

A outra, desenvolvida nos EUA, utiliza cepas dos quatro sorotipos do vírus da dengue atenuadas por passagens sucessivas em células PDK e uma passagem final de células de pulmão de feto de macaco Rhesus. Essa vacina está sendo desenvolvida pelo laboratório Glaxo-SmithKline Biologicals®.

Ambas apresentaram elevada eficácia, tolerabilidade e segurança em ensaios clínicos de fase I e II. Ensaios clínicos de fase III estão em andamento<sup>48,50,55</sup>.

#### *Quimeras*

Quimeras são vírus viáveis, replicantes, obtidos através da inserção de genes codificadores de determinados antígenos desejáveis de um ou mais vírus em outro vírus, denominado de *backbone*.

Existem pelo menos quatro vacinas de quimeras em fase adiantada de desenvolvimento, todas promissoras<sup>50,55</sup>:

- Genes prM e E dos quatro sorotipos do vírus da dengue inseridos em uma porção não-estrutural do vírus vacinal da febre amarela, 17D (Acambis & Sanofi-Pasteur®).
- Genes prM e E dos quatro sorotipos do vírus da dengue inseridos em uma porção não-estrutural do vírus DEN-2 (16681, PDK 53) atenuado (CDC).

- Genes prM e E dos vírus da dengue DEN-1, DEN-2 e DEN-3 inseridos no vírus DEN-4 atenuado por deleção de nucleotídeos específicos (NIH).
- Genes prM e E dos vírus da dengue DEN-2, DEN-3 e DEN-4 inseridos no vírus DEN-1 atenuado por deleção de nucleotídeos específicos (FDA).

### **Perspectivas**

As duas vacinas de vírus vivo atenuado parecem ser as mais promissoras e já se mostraram eficazes em ensaios clínicos. Um aspecto a ser demonstrado é se essa eficácia é uniforme e consistente para os quatro sorotipos, sob o risco teórico de criar um risco aumentado para o desenvolvimento de formas graves.

As vacinas de quimeras deverão ser uma alternativa interessante para o futuro, mas apresentam o mesmo problema básico que as vacinas de vírus atenuado, o de aumentar o risco de desenvolvimento de formas graves se a imunidade conferida não for homogênea para os quatro sorotipos<sup>54,56</sup>.

### **Vacinas contra a malária**

Estima-se que cerca de 2,7 milhões de pessoas, a maioria crianças, morram de malária anualmente e que mais de 2 bilhões de pessoas estariam expostas ao risco de adquirir a doença em todo o mundo. No Brasil, ainda que o número de óbitos não seja expressivo, há décadas que o número de casos se conta às centenas de milhares.

A malária, assim como a AIDS, tem se mostrado um desafio enorme ao desenvolvimento de uma vacina, não somente devido à complexidade da resposta imune à infecção, mas também por falta de apoio político<sup>57-59</sup>.

A quase totalidade das vacinas em desenvolvimento são dirigidas contra o *Plasmodium falciparum*, responsável pelas formas graves da malária e pela imensa maioria dos óbitos<sup>60</sup>.

### **Problemas para o desenvolvimento de uma vacina**

Os plasmódios apresentam um ciclo de vida complexo, com diversos estágios, tanto no hospedeiro definitivo como no vetor, e diferentes antígenos são expressos a cada estágio, ainda que o projeto de genoma malária tenha demonstrado que o mesmo antígeno pode ser expresso em diferentes estágios do ciclo de vida<sup>61,62</sup>.

O grande problema, no entanto, tem sido a complexidade da resposta imune ao parasita. Não se dispõe, até o momento, de nenhuma vacina eficaz e segura contra protozoários, organismos infinitamente mais complexos que vírus e bactérias. Os plasmódios têm mais de 5 mil genes, contra cinco ou 10 da maioria dos vírus<sup>61-63</sup>.

### **O Plasmodium spp. e a resposta imune**

As principais etapas do ciclo de vida do *P. falciparum* podem ser resumidos em:

*Fase pré-eritrocítica:* o parasita é inoculado pelo vetor

anofelino, que introduz cerca de 15 esporozoítas na circulação sanguínea. Esses esporozoítas migram rapidamente para o fígado, alojando-se nos hepatócitos, onde passam por um processo de replicação assexuada com uma duração média de 6 a 7 dias, liberando cerca de 20 a 40 mil merozoítas na circulação sanguínea.

**Fase eritrocítica ou sanguínea:** os merozoítas passam por um ciclo de infecção de hemácias, replicação assexuada e rompimento das hemácias, com liberação de mais merozoítas. Essa é a fase em que surgem as manifestações clínicas da malária e sua duração e intensidade dependem da resposta imune do hospedeiro.

**Fase sexuada:** alguns merozoítas transformam-se em gametocitos, masculinos e femininos. Essas formas são eventualmente aspiradas pelo vetor anofelino, no interior do qual se dá a reprodução sexuada, completando o ciclo ao produzir esporozoítas que são inoculados em outro hospedeiro<sup>57</sup>.

A resposta imune à malária é parcial e espécie e cepa específica, porém existem evidências experimentais que demonstram que a proteção por uma vacina é possível<sup>64,65</sup>:

- A imunização de animais e humanos com esporozoítas irradiados resulta em proteção parcial ou completa ante uma infecção experimental com esporozoítas viáveis.
- A infecção repetida leva à indução de imunidade natural.
- A transferência passiva de imunoglobulina de pessoa imune confere imunidade em crianças.
- Vários ensaios clínicos de fase I e II de diferentes vacinas demonstraram proteção, ainda que essas vacinas tenham eficácia reduzida.

### **Estratégias para o desenvolvimento de uma vacina**

Desde que foi demonstrado que esporozoítas irradiados eram capazes de induzir imunidade, já se passaram mais de 3 décadas. Dada a complexidade do ciclo de vida do parasita e da sua igualmente complexa estrutura antigênica, as técnicas tradicionais de atenuação e inativação não encontraram sucesso. A identificação de diferentes proteínas capazes de induzir imunidade, ainda que parcial, em animais e humanos, faz das vacinas subunitárias a estratégia principal atualmente utilizada.

Vacinas de DNA e de vetor recombinante também vêm sendo avaliadas, porém as vacinas que avançaram mais são as subunitárias. Essas podem ser subdivididas conforme a fase do ciclo visada<sup>65,66</sup>.

#### *Pré-eritrocíticas*

O antígeno melhor conhecido é a proteína circunsporozoíta (CSP) expressada nos esporozoítas extracelulares e nas formas intra-hepatocíticas do parasita. Essa proteína, recombinante ou sintética, mostrou-se segura e antigênica, mas conferindo proteção parcial apenas.

A vacina baseada na CSP com melhores resultados e mais promissora, já em estudos de fase III, é a RTS,S,

resultado de uma colaboração entre o *Walter Reed Army Research Institute* dos EUA e o laboratório GlaxoSmithKline Biologicals®.

Essa vacina consiste em um híbrido no qual a CSP é fundida ao antígeno de superfície da hepatite B, utilizado na vacina contra a hepatite B, associada a um adjuvante potente, AS02 (*adjuvant system 02*). Esse adjuvante é uma combinação do monofosforil lípide A (MPL), um componente purificado de parede bacteriana, uma saponina (QS-21) e uma emulsão de água e óleo<sup>67-69</sup>.

#### *Eritrocíticas*

A maioria das vacinas eritrocitárias têm como base a proteína do plasmódio responsável pela entrada dos merozoítas na hemácia. O mais bem estudado é a *merozoite surface protein 1* (MSP1). Anticorpos contra a MSP1 determinam resistência à malária clinicamente manifesta, sugerindo que uma vacina utilizando essa proteína seria protetora, o que já foi demonstrado em modelos animais. Diversas vacinas semelhantes já foram ou estão sendo submetidas a ensaios clínicos de fase I. Outros antígenos, geralmente variantes da MSP1, também estão sendo estudados, ainda em etapas iniciais<sup>60,65,66</sup>.

#### *Bloqueadoras de transmissão*

São vacinas capazes de bloquear a transmissão do plasmódio para mosquitos, mas não protegem a pessoa vacinada. Ao bloquear os gametocitos, impedem o prosseguimento do ciclo do plasmódio, inviabilizando a reprodução sexuada.

Diversas vacinas estão sendo avaliadas, nenhuma delas em etapa avançada de desenvolvimento. Por não protegerem a pessoa vacinada, sua aplicação possivelmente será em combinação com outras vacinas<sup>60,65</sup>.

#### **Perspectivas**

Apesar de uma série de frustrações ao longo de mais de 30 anos de estudos para uma vacina contra a malária, grandes avanços foram conseguidos nos últimos anos e, pela primeira vez, existe uma vacina realmente promissora já em ensaios clínicos de fase III, a RTS,S.

O seqüenciamento completo do genoma do *P. falciparum* permite a identificação de potenciais antígenos a serem investigados<sup>70</sup>. Da mesma maneira que para AIDS e dengue, uma vacina parcialmente eficaz já seria um avanço, pois reduziria a transmissão, impedindo epidemias, reduziria o risco de desenvolvimento de resistência aos anti-maláricos e, combinada com o uso de mosquiteiros impregnados com permetrina e com o uso de profilaxia medicamentosa, possibilitaria um controle mais efetivo<sup>59</sup>.

#### **Considerações finais**

A revisão precedente demonstra que o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz é um processo longo, difícil e, muitas vezes, de solução incerta. Das vacinas acima, a do

HIV é a que apresenta ainda maiores problemas, mas o encaminhamento dos estudos permite, talvez com um pequeno excesso de otimismo, prever que os problemas serão transpostos em um futuro de curto prazo.

### Conflitos de interesse

Luiz Jacintho da Silva declara que é consultor em vacina de HPV da GlaxoSmithKline Biologicals e que já proferiu palestras e participou de comitês assessores para GlaxoSmithKline Biologicals, Sanofi-Pasteur, Wyeth e Chiron. Rosana Richtmann declara que é palestrante eventual do Laboratório MSD e do Laboratório Wyeth.

### Referências

- Gibbs RS, Schrag S, Schuchat A. Perinatal infections due to group B streptococci. *Obstet Gynecol.* 2004;104:1062-76.
- Vaciloto E, Richtmann R, Costa HPF, Kusano EJU, Almeida MFB, Amaro ER. A survey of the incidence of neonatal sepsis by group B streptococcus during a decade in a Brazilian maternity hospital. *Braz J Infect Dis.* 2002;6:55-62.
- Schuchat A. Group B streptococcus. *Lancet.* 1999;353:51-6.
- Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep.* 2002;51:1-22.
- Centers for Disease Control and Prevention. Active Bacterial Core Surveillance (ABCs) Report, Emerging Infections Program Network, group B streptococcus, 2002. <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/abcs/survreports/gbs02.pdf>. Acesso: 04/03/2006.
- Lin FY, Weisman LE, Azimi PH, Phillips JB 3rd, Clark P, Regan J, et al. Level of maternal IgG anti-group B streptococcus type III antibody correlated with protection of neonates against early-onset disease caused by this pathogen. *J Infect Dis.* 2004;190:928-34.
- Baker CJ, Kasper DL. Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal group B streptococcal infection. *N Engl J Med.* 1976;294:753-6.
- Baker CJ, Kasper DL. Group B streptococcal vaccines. *Rev Infect Dis.* 1985;7:458-67.
- Baker CJ, Rench MA, Edwards MS, Carpenter RJ, Hays BM, Kasper DL. Immunization of pregnant women with a polysaccharide vaccine of group B streptococcus. *N Engl J Med.* 1988;319:1180-5.
- Zaleznik DF, Rench MA, Hillier S, Krohn MA, Platt R, Lee ML, et al. Invasive disease due to group B streptococcus in pregnant women and neonates from diverse population groups. *Clin Infect Dis.* 2000;30:276-81.
- Kasper DL, Paoletti LC, Wessels MR, Guttormsen HK, Carey VJ, Jennings HJ, et al. Immune response to type III group B streptococcal polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *J Clin Invest.* 1996;98:2308-14.
- Baker CJ, Paoletti LC, Wessels MR, Guttormsen HK, Rench MA, Hickman ME, et al. Safety and immunogenicity of capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccines for group B streptococcal types Ia and Ib. *J Infect Dis.* 1999;179:142-50.
- Baker CJ, Paoletti LC, Rench MA, Guttormsen HK, Edwards MS, Kasper DL. Immune response of healthy women to 2 different group B streptococcal type V capsular polysaccharide-protein conjugate vaccines. *J Infect Dis.* 2004;189:1103-12.
- Heath PT, Feldman RG. Vaccination against group B streptococcus. *Expert Rev Vaccines.* 2005;4:207-18.
- Poland GA. The growing paradigm of preventing disease: vaccines to prevent herpes zoster and pertussis in adults. *Ann Intern Med.* 2005;143:539-41.
- Donahue JG, Choo PW, Manson JE, Platt R. The incidence of herpes zoster. *Arch Intern Med.* 1995;155:1605-9.
- Helgason S, Petursson G, Gudmundsson S, Sigurdsson JA. Prevalence of postherpetic neuralgia after a first episode of herpes zoster: prospective study with long term follow up. *BMJ.* 2000;321:794-6.
- di Luzio Paparatti U, Arpinelli F, Visona G. Herpes zoster and its complication in Italy: an observational survey. *J Infect.* 1999;38:116-20.
- Chidiac C, Bruxelle J, Daures JP, Hoang-Xuan T, Morel P, Lepage A, et al. Characteristics of patients with herpes zoster on presentation to practitioners in France. *Clin Infect Dis.* 2001;33:62-9.
- Hodson AH. Epidemiology of shingles. *JR Soc Med.* 1991;84:184.
- Mounsey AL, Matthew LG, Slawson DC. Herpes zoster and postherpetic neuralgia: prevention and management. *Am Fam Physician.* 2005;72:1075-80.
- Thomas SL, Wheeler JG, Hall AJ. Contacts with varicella or with children and protection against herpes zoster in adults: a case-control study. *Lancet.* 2002;360:678-82.
- Wood MJ, Kay R, Dworkin RH, Soong SJ, Whitley RJ. Oral acyclovir therapy accelerates pain resolution in patients with herpes zoster: a meta-analysis of placebo-controlled trials. *Clin Infect Dis.* 1996;22:341-7.
- Tyring SK, Beutner KR, Tucker BA, Anderson WC, Crooks RJ. Antiviral therapy for herpes zoster: randomized, controlled clinical trial of valacyclovir and famciclovir therapy in immunocompetent patients 50 years and older. *Arch Fam Med.* 2000;9:863-9.
- Jackson JL, Gibbons R, Meyer G, Inouye L. The effect of treating herpes zoster with oral acyclovir in preventing postherpetic neuralgia. A meta-analysis. *Arch Intern Med.* 1997;157:909-12.
- Oxman MN, Levin MJ, Johnson GR, Schmader KE, Straus SE, Gelb LD, et al. A vaccine to prevent herpes zoster and postherpetic neuralgia in older adults. *N Engl J Med.* 2005;352:2271-84.
- Campion EW. The oldest old. *N Engl J Med.* 1994;330:1819-20.
- Gilden DH. Varicella-zoster virus vaccine – grown-ups need it, too. *N Engl J Med.* 2005;352:2344-6.
- Esparza J. The global HIV vaccine enterprise. *Int Microbiol.* 2005;8:93-101.
- Garber DA, Silvestri G, Feinberg MB. Prospects for an AIDS vaccine: three big questions, no easy answers. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:397-413.
- Sahloff EG. Current issues in the development of a vaccine to prevent human immunodeficiency virus: insights from the society of infectious diseases pharmacists. *Pharmacotherapy.* 2005;25:741-7.
- Letvin NL. Progress toward an HIV vaccine. *Annu Rev Med.* 2005;56:213-23.
- Excler JL. AIDS vaccine development: perspectives, challenges & hopes. *Indian J Med Res.* 2005;121:568-81.
- Derdeyn CA, Silvestri G. Viral and host factors in the pathogenesis of HIV infection. *Curr Opin Immunol.* 2005;17:366-73.
- Douek DC, Kwong PD, Nabel GJ. The rational design of an AIDS vaccine. *Cell.* 2006;124:677-81.
- Slobod KS, Coleclough C, Bonsignori M, Brown SA, Zhan X, Surman S, et al. HIV vaccine rationale, design and testing. *Curr HIV Res.* 2005;3:107-12.
- Apetrei C, Marx PA, Smith SM. The evolution of HIV and its consequences. *Infect Dis Clin North Am.* 2004;18:369-94.
- Sierra S, Kupfer B, Kaiser R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. *J Clin Virol.* 2005;34:233-44.
- Krogstad P. Molecular biology of the human immunodeficiency virus: current and future targets for intervention. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2003;14:258-68.
- D'Souza MP, Allen M, Sheets R, Johnston MI. Current advances in HIV vaccines. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2004;1:18-24.
- Levy Y. Therapeutic HIV vaccines: an update. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2005;2:5-9.
- Tonini T, Barnett S, Donnelly J, Rappuoli R. Current approaches to developing a preventative HIV vaccine. *Curr Opin Investig Drugs.* 2005;6:155-62.
- Teixeira Mda G, Costa Mda C, Barreto ML, Mota E. Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research is needed based on trends, surveillance, and control experiences? *Cad Saude Publica.* 2005;21:1307-15.
- Malavige GN, Fernando S, Fernando DJ, Seneviratne SL. Dengue viral infections. *Postgrad Med J.* 2004;80:588-601.
- Kroeger A, Nathan M, Hombach J; World Health Organization TDR Reference Group on Dengue. Dengue. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2:360-1.
- Ligon BL. Dengue fever and dengue hemorrhagic fever: a review of the history, transmission, treatment, and prevention. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2005;16:60-5.

47. Pugachev KV, Guirakhoo F, Monath TP. New developments in flavivirus vaccines with special attention to yellow fever. *Curr Opin Infect Dis.* 2005;18:387-94.
48. Innis BL, Eckels KH. Progress in development of a live-attenuated, tetravalent dengue virus vaccine by the United States Army Medical Research and Materiel Command. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;69:1-4.
49. Guzman MG, Mune M, Kouri G. Dengue vaccine: priorities and progress. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2004;2:895-911.
50. Halstead SB, Deen J. The future of dengue vaccines. *Lancet.* 2002;360:1243-5.
51. Rothman AL. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *J Clin Invest.* 2004;113:946-51.
52. Stephenson JR. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. *Bull World Health Organ.* 2005;83:308-14.
53. Navarro-Sanchez E, Despres P, Cedillo-Barron L. Innate immune responses to dengue virus. *Arch Med Res.* 2005;36:425-35.
54. Lai CJ, Monath TP. Chimeric flaviviruses: novel vaccines against dengue fever, tick-borne encephalitis, and Japanese encephalitis. *Adv Virus Res.* 2003;61:469-509.
55. Chaturvedi UC, Shrivastava R, Nagar R. Dengue vaccines: problems and prospects. *Indian J Med Res.* 2005;121:639-52.
56. Damonte EB, Pujol CA, Coto CE. Prospects for the therapy and prevention of dengue virus infections. *Adv Virus Res.* 2004;63:239-85.
57. Schlagenhauf P. Malaria: from prehistory to present. *Infect Dis Clin North Am.* 2004;18:189-205.
58. Greenwood B. Malaria vaccines. Evaluation and implementation. *Acta Trop.* 2005;95:298-304.
59. Breman JG, Alilio MS, Mills A. Conquering the intolerable burden of malaria: what's new, what's needed: a summary. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;71:1-15.
60. Moorthy VS, Good MF, Hill AV. Malaria vaccine developments. *Lancet.* 2004;363:150-6.
61. Good MF, Staniscic D, Xu H, Elliott S, Wykes M. The immunological challenge to developing a vaccine to the blood stages of malaria parasites. *Immunol Rev.* 2004;201:254-67.
62. Engwerda CR, Good MF. Interactions between malaria parasites and the host immune system. *Curr Opin Immunol.* 2005;17:381-7.
63. Good MF, Xu H, Wykes M, Engwerda CR. Development and regulation of cell-mediated immune responses to the blood stages of malaria: implications for vaccine research. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:69-99.
64. Good MF. Vaccine-induced immunity to malaria parasites and the need for novel strategies. *Trends Parasitol.* 2005;21:29-34.
65. Webster D, Hill AV. Progress with new malaria vaccines. *Bull World Health Organ.* 2003;81:902-9.
66. Greenwood BM, Bojang K, Whitty CJ, Targett GA. Malaria. *Lancet.* 2005;365:1487-98.
67. Heppner DG Jr, Kester KE, Ockenhouse CF, Tornieporth N, Ofori O, Lyon JA, et al. Towards an RTS, S-based, multi-stage, multi-antigen vaccine against falciparum malaria: progress at the Walter Reed Army Institute of Research. *Vaccine.* 2005;23:2243-50.
68. Ballou WR, Arevalo-Herrera M, Carucci D, Richie TL, Corradin G, Diggs C, et al. Update on the clinical development of candidate malaria vaccines. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;71:239-47.
69. Hill AV. Pre-erythrocytic malaria vaccines: towards greater efficacy. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:21-32.
70. Vernick KD, Waters AP. Genomics and malaria control. *N Engl J Med.* 2004;351:1901-4.

Correspondência:  
Luiz Jacintho da Silva  
Rua Nanuque, 432, ap. 164  
CEP 05302-030 – São Paulo, SP  
E-mail: ljsilva@unicamp.br