En la búsqueda de una vacuna contra la leishmaniasis

Katherine Gilchrist • Medellín, Colombia

Objetivo: realizar una puesta al día de lo que ha sido el diseño y la evaluación de vacunas contra la leishmaniasis.

Fuente de datos: se empleó la base de datos Pubmed (1990-1999) cruzando las palabras "leishmaniasis" y "vaccine". Además, se incluyeron los informes presentados en las reuniones de trabajo sobre este tema realizadas por la Organización Mundial de la Salud.

Selección de los estudios: de 166 artículos se seleccionaron 40 en los que se tratan ya sea la seguridad, la respuesta inmune o la eficacia de la posible vacuna.

Extracción de los datos: de los artículos referentes a seguridad y eficacia se incluyeron los evaluados en humanos y de los que tratan la respuesta inmune se incluyeron tanto ensayos en humanos como en modelo murino.

Síntesis de los datos: la leishmaniasis es una enfermedad con estimado global de 500 mil casos nuevos por año. Las características clínicas y epidemiológicas de la enfermedad dificultan su tratamiento y control. Actualmente se están enfocando todos los esfuerzos al desarrollo de vacunas que puedan ser empleadas en los diferentes focos de infección. El desarrollo de la vacuna ha pasado por diferentes períodos, desde la ejecución de ensayos empíricos con parásitos derivados de lesiones y la utilización de parásitos muertos o atenuados, hasta el empleo de técnicas de ingeniería genética para la selección de proteínas con características inmunogénicas.

Conclusión: se han hecho diversas aproximaciones a la vacuna contra la leishmaniasis, encontrándose resultados alentadores en algunos casos y contradictorios en otros. Al continuar con la búsqueda de la vacuna es importante no perder de vista los resultados arrojados por los estudios realizados hasta ahora. (*Acta Med Colomb* 1999;24:258-264).

Palabras clave: *Leishmaniasis, vacuna*

Introducción

La leishmaniasis es una enfermedad tropical causada por más de 20 especies de parásitos pertenecientes a la familia *Trypanosomatidae*, género *Leishmania*. Los parásitos son transmitidos por insectos vectores de los géneros *Lutzomyia* en América y *Phlebotomus* en Europa, Asia y África.

Durante su ciclo de vida el parásito se encuentra bajo dos formas: amastigote y promastigote. El amastigote es de forma ovalada o redondeada, mide de 2 a 5 mm de diámetro, posee un núcleo generalmente excéntrico. Adyacente al núcleo se encuentra el kinetoplasto, una organela que contiene ADN mitocondrial. El amastigote se localiza y divide en el interior de los macrófagos de la piel y órganos del sistema mononuclear fagocítico de los hospederos vertebrados. A su vez, el promastigote es delgado y móvil; mide aproximadamente 20 mm y además de núcleo y

kinetoplasto, posee un flagelo en la parte anterior; se encuentra a nivel del tracto digestivo del vector y es fácil de obtener en los medios de cultivo (1).

Desde el punto de vista clínico, la leishmaniasis se clasifica en cutánea, mucocutánea y visceral, dependiendo del compromiso de la piel, las mucosas naso-oro-faríngeas o los órganos del sistema mononuclear fagocítico, respectivamente. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad están determinadas por la especie de *Leishmania*, el tamaño del inóculo y las características inmunológicas del hospedero (2, 3).

La leishmaniasis cutánea (LC) es la forma clínica más frecuente, con un estimado de 1.5 millones de casos nuevos por año. Se subdivide a su vez en leishmaniasis cutánea

Dra. Katherine Gilchrist: Bióloga, Estudiante de Maestría en Medicina Tropical. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET. Medellín.

localizada (LCL) y leishmaniasis cutánea difusa (LCD). La LCL comprende más de 90% de los pacientes con lesiones cutáneas; se caracteriza por presentar una o más lesiones localizadas y una fuerte respuesta inmune mediada por células, la cual se evidencia por la prueba cutánea de Montenegro. Al contrario, la LCD es una forma más severa y progresiva de la enfermedad. Se caracteriza por presentar una respuesta inmune celular deficiente con una prueba de Montenegro negativa y lesiones de tipo nodular. Además de la piel, puede comprometer las mucosas naso-oro-faríngeas y algunos nódulos linfáticos (2).

La leishmaniasis mucocutánea (LMC) representa la principal complicación de la leishmaniasis cutánea. Se presenta cuando los parásitos, luego de estar en la piel, viajan por vía linfática, sanguínea o ambas, e invaden mucosas naso-oro-faríngeas ocasionando su destrucción. Los pacientes presentan una prueba de Montenegro positiva, lo que indica una respuesta inmune celular activa (2, 3).

La leishmaniasis visceral (LV) es la forma más severa de la enfermedad y puede ocasionar la muerte si no se aplica con tratamiento adecuado y oportuno. Los parásitos invaden órganos del sistema mononuclear fagocítico tales como el bazo, el hígado y la médula ósea. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el estimado global de LV es de 500.000 casos nuevos por año (2,3). En países del viejo mundo como la India, el este del Africa, la península árabe y el sudeste de China, la infección es causada por *L. (L.) donovani*. En estas regiones la enfermedad se conoce como "Kala-azar" que significa "fiebre negra", debido a la coloración oscura de la piel que presentan las personas infectadas (2). En la cuenca del Mediterráneo y América Latina el agente causal de la enfermedad es *L. (L.) infantum*. Algunos investigadores consideran que en América Latina el agente causal de la LV es *L. (L.) chagasi*, sin embargo desde el punto de vista enzimático *L. (L.) chagasi* es indistinguible de *L. (L.) infantum* (4).

Justificación para la obtención de una vacuna contra la leishmaniasis

La leishmaniasis es un problema que afecta a más de 80 países con diferentes grados de severidad. Actualmente no se tiene un programa de control efectivo. Las aproximaciones hechas hasta el momento que incluyen control de los vectores y los reservorios, diagnóstico y tratamiento oportuno de los casos humanos y programas educativos, han tenido un éxito transitorio debido a los altos costos y a las dificultades de mantener la infraestructura requerida. Por otro lado, algunas de las estrategias que han tenido éxito en algunos países no se pueden aplicar a todos los focos ya sea por las diferencias epidemiológicas o las condiciones políticas y económicas de cada región (1, 5).

En diversos países el programa de control de la leishmaniasis se basa en el diagnóstico y posterior tratamiento de los casos empleando antimoniales pentavalentes. Sin embargo, estos medicamentos presentan inconvenien-

tes como el alto costo, la vía de administración parenteral, la duración del tratamiento (20-28 días), los efectos secundarios, el incremento en la aparición de cepas resistentes; están además contraindicados en el embarazo y en personas con problemas hepáticos y cardíacos severos (2, 6).

La experiencia mundial muestra que la mejor relación costo-beneficio en el control de enfermedades transmisibles se da con el empleo de vacunas; por ello, el programa especial de investigación en enfermedades tropicales (TDR) de la OMS asignó prioridad a la búsqueda de una vacuna contra la leishmaniasis (2, 6).

Algunas evidencias que sugieren que una vacuna contra la leishmaniasis sea posible incluyen:

1. La generación de resistencia a reinfección luego de la inoculación de parásitos vivos atenuados de *L. (L.) major* en el viejo mundo (2, 6).
2. La conversión de ratones susceptibles en resistentes con la inoculación de proteínas extraídas de parásitos, solas o acompañadas de BCG (2, 6).
3. La curación clínica de las lesiones luego de tratamiento con parásitos muertos (inmunoterapia) (3, 7).

Proceso de evaluación de las vacunas

Para determinar la seguridad, la inmunogenicidad, la eficacia y los beneficios para la población, una posible vacuna debe pasar por una serie de estudios y análisis que incluyen diferentes fases:

Fase 0: realización de ensayos tanto *in vitro* (cultivos celulares) como *in vivo* (modelos animales), para evaluar el grado de toxicidad, la eficacia y el tipo de respuesta inmune que desencadena la vacuna (8).

Fase I: determinación de la seguridad de la vacuna, es decir, el grado de toxicidad y los posibles efectos secundarios que la vacuna pueda causar en humanos; se decide la dosis óptima y el esquema de vacunación. El estudio se lleva a cabo en un grupo pequeño de individuos, voluntarios, adultos y sanos que vivan fuera de áreas endémicas. Es importante incluir un grupo control al que se le aplique un placebo (2, 8 -10).

Fase II: en esta fase se aplica la dosis y el esquema de vacunación previamente seleccionado, con el fin de evaluar los efectos secundarios y la capacidad inmunogénica, es decir, la respuesta inmune que desencadena la vacuna. Al igual que en la fase I, los ensayos se llevan a cabo en adultos sanos (hombres y mujeres) residentes en áreas no endémicas (2, 8, 9).

Fase III: evalúa la eficacia de la vacuna en personas que se encuentran en alto riesgo de infección. Se determina comparando la incidencia y las características clínicas de la enfermedad que presentan las personas vacunadas con relación al grupo control (placebo). Para ello es necesario hacer un ensayo doble ciego que incluya cientos o miles de voluntarios (2, 8, 9).

Fase IV: luego de la aprobación, el registro y la comercialización de la vacuna, se realizan ensayos clínicos

que tienen como fin evaluar la aparición de efectos adversos o desconocidos, el impacto epidemiológico del programa de vacunación, el efecto de la aplicación de la vacuna en situaciones epidemiológicas diferentes, la búsqueda de estrategias operacionales alternas y la duración del efecto inmunológico (8).

Aproximaciones a una vacuna contra la leishmaniasis

Actualmente existen evaluaciones de productos candidatos, cada una de ellas realizadas en diferentes fases. Las aproximaciones hasta ahora evaluadas incluyen:

Leishmanización: es un procedimiento originalmente empleado por los habitantes del norte de África en focos endémicos para la *L. (L.) major* y la *L. (L.) tropica*, agentes causales de LC conocida como "Botón de Oriente". Dado que el "Botón de Oriente" presenta como característica la producción de inmunidad duradera y con el fin de proteger el rostro, estas personas aplican el material obtenido del borde activo de una lesión cutánea en una incisión que practican en las extremidades inferiores de las mujeres, principalmente niñas, que aún no han sufrido la enfermedad. Con este procedimiento se infecta la persona y desarrolla una lesión en el sitio del in»culo. La generación de inmunidad duradera impide la aparición de lesiones nuevas y por tanto de cicatrices en el rostro luego de la picadura de vectores infectados (11).

Teniendo en cuenta estas observaciones, investigadores de la antigua Unión Soviética y de Israel inocularon cepas de *L. (L.) major* atenuadas en la región deltoide, de voluntarios residentes en zonas endémicas. El desarrollo de una respuesta de inmunidad celular se evidenció por la conversión de la prueba de Montenegro (9, 12).

Durante la guerra Irán-Irak se extendió la práctica de la leishmanización en soldados y civiles, sin embargo, la aparición de lesiones que no cicatrizan llevó a los investigadores a centrar los esfuerzos en el desarrollo de vacunas a partir de parásitos muertos (9). Actualmente, la OMS no recomienda la práctica de la leishmanización.

Vacunas de primera generación (vacunas empíricas): las vacunas de primera generación consisten en una suspensión de promastigotes muertos de diferentes especies de *Leishmania* con o sin BCG (bacilo de *Calmette y Guérin*) como adyuvante (2). Desde los años 40 en Brasil, Pessôa y colaboradores empezaron a hacer ensayos con una mezcla de promastigotes de 18 cepas dermatrópicas de *Leishmania*, muertos con fenol. Para la evaluación de la vacuna seleccionaron un grupo de 1.127 individuos que presentaban una prueba de Montenegro negativa, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos: grupo vacuna y grupo control. Aunque se encontró una reducción de la infección aproximadamente en 80% en las personas vacunadas y no se observaron efectos secundarios causados por la vacuna, en este primer ensayo no se observó conversión en la prueba de Montenegro (7).

A finales de los años 70, Mayrink y su grupo utilizaron una mezcla de cinco cepas de *Leishmania* de diferentes regiones geográficas de Brasil para producir una vacuna a partir de parásitos sonicados. En la población vacunada se observó una conversión de la prueba de Montenegro sin presentarse efectos secundarios, sugiriéndose así que en humanos los parásitos muertos generan una respuesta inmune de tipo celular (7).

A lo largo de los años 80 y principios de los 90, Mayrink y col evaluaron la vacuna descrita anteriormente en diferentes poblaciones de Brasil (Caratinga, Minas Gérais, Viana y Manaos). En términos generales se observó una conversión de la prueba de Montenegro en las personas vacunadas y una menor incidencia de la enfermedad con relación al grupo control. Al inicio de los años 90 comenzaron los estudios de proliferación de linfocitos humanos y cuantificación de la producción de citoquinas y anticuerpos utilizando antígeno de *Leishmania* como herramientas útiles para evaluar la respuesta inmune. Los resultados de estos ensayos han mostrado que, en los individuos vacunados, se observa una inducción de la respuesta inmune al encontrarse una proliferación de linfocitos y un aumento en la producción de IFN γ , lo que se ha asociado con una tendencia a la inducción de una respuesta celular protectora tipo Th1 (13, 14).

Los ensayos de vacunación con las cinco cepas de *Leishmania* han generado varios interrogantes no sólo en cuanto a las dificultades que tiene su fabricación sino también por los problemas que se presentan al tratar de identificar los antígenos responsables del efecto protector (7). Para seleccionar una sola especie se llevó a cabo un ensayo en 63 individuos con prueba de Montenegro negativa, comparando las vacunas producidas a partir de la *L. (L.) amazonensis*, la *L. (V.) guyanensis* y la mezcla de las cinco cepas. Las diferentes vacunas indujeron la conversión de la prueba de Montenegro, la proliferación de linfocitos y la producción de IFN γ (15). Por lo tanto, para la preparación y la producción de la vacuna se seleccionó la especie *L. (L.) amazonensis*, considerándose más los criterios técnicos que los criterios inmunológicos (7).

En 1995 la compañía brasilera Biobras S.A. adoptó la fabricación de la vacuna a partir de la *L. (L.) amazonensis*, la cual se preparó con parásitos autoclavados o no autoclavados. En una primera evaluación no se observaron efectos secundarios ni diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de conversión del Montenegro, ni se detectaron niveles de anticuerpos en ninguno de los grupos en respuesta a la vacuna (16). En otro estudio realizado por Mayrink y col (17) se encontró una conversión de 59% en la prueba de Montenegro con la vacuna autoclavada y de 83% con la no autoclavada, pero los ensayos de proliferación de linfocitos no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Este mismo grupo (18) evaluó la estabilidad de la vacuna mantenida por un año a 4°C. Se encontró diferencia tanto en la conversión de

la prueba del Montenegro como en la producción de $IFN\gamma$, siendo mayores en la vacuna no autoclavada. La IL-12 se detectó en ambos grupos de individuos antes y después de la vacunación, sin mostrar diferencias significativas entre los dos períodos de estudio y no se observaron niveles de IL-4 en ninguno de los dos grupos, tanto antes como después de la vacuna.

Paralelamente, en Ecuador se ha venido evaluando una vacuna de promastigotes de tres especies de *Leishmania* muertas con fenol y utilizando BCG como adyuvante. En los resultados de estos ensayos no informan ningún efecto secundario "grave", pero sí observan ulceración, dolor, secreción y prurito en el sitio de aplicación de la vacuna durante el primer mes. Encuentran 80% de conversión de la prueba del Montenegro en los individuos vacunados y 20% en los individuos controles. Así mismo, encuentran un aumento significativo en los niveles de IgG específica para antígeno de *Leishmania* en el grupo vacunado. La eficacia de la vacuna se evaluó comparando el índice de incidencia, el cual fue de 2.1% y 7.6% para el grupo vacuna y control, respectivamente, indicando 72.9% de eficacia para dicha vacuna (19).

En Venezuela, Convit y su grupo han estudiado el efecto del BCG como adyuvante en una vacuna fabricada con promastigotes autoclavados de *L. (L.) amazonensis*. Un grupo de 208 voluntarios, con pruebas de Montenegro y PPD negativas, se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos. Se encontró un aumento en la conversión de la prueba de Montenegro, en el índice de proliferación y en la producción de $IFN\gamma$ en los individuos que recibieron la vacuna con BCG, con lo que concluyen que el BCG utilizado como adyuvante potencia la respuesta inmune frente a la vacuna contra la leishmaniasis (20, 21). No encontraron efectos secundarios causados ni por la vacuna ni por el BCG,

El Instituto Razi de Irán produce actualmente una vacuna a partir de promastigotes de *L. (L.) major*, la cual ha pasado por una serie de ensayos. Inicialmente, se evaluaron diferentes concentraciones de proteína total de los parásitos, aplicada sola o con BCG. La presencia de nódulos y úlceras sólo se observó en los individuos que recibieron BCG. La conversión de la prueba de Montenegro fue similar en los grupos vacunados tanto en presencia como en ausencia de BCG y la producción de $IFN\gamma$ no mostró correlación con la conversión de la prueba de Montenegro (12). En otro ensayo realizado en Irán, se compararon las vacunas con parásitos autoclavados (ALM) y con parásitos muertos por medio de ciclos de congelación y descongelación (KLM), tomando diferentes concentraciones de proteínas totales de los parásitos. Los efectos secundarios sólo se observaron en los individuos que recibieron BCG (solo o con la vacuna). No se encontraron diferencias significativas en la conversión de la prueba del Montenegro con relación a la concentración de proteína, tanto en las vacunas a partir de parásitos autoclavados como en la vacuna de

parásitos muertos por ciclos de congelación y descongelación (22). Estos resultados llevaron a la evaluación en fase II de la vacuna de promastigotes de *L. (L.) major* autoclavados en presencia de BCG. El grupo control recibió únicamente BCG. El ensayo se realizó en 3.637 escolares residentes en zona endémica de LC. Los individuos se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos y se les hizo seguimiento durante dos años. Los efectos secundarios observados fueron atribuidos al BCG y aunque se presentaron úlceras e induraciones, no se excluyó ningún niño del estudio. La reactividad de la vacuna fue poca dado que la conversión de la prueba de Montenegro se observó en menos de 20% de los individuos vacunados. Los autores concluyen que posiblemente sea necesario emplear una mayor dosis de la vacuna y tener un grupo placebo para comparar los efectos del BCG aplicado solo o haciendo parte del esquema de vacunación (23). Posteriormente, se evaluó la seguridad y la eficacia de la aplicación de una dosis de la vacuna ALM con BCG en un estudio doble ciego que incluyó 2.453 voluntarios sanos, distribuidos aleatoriamente en dos grupos: vacuna con BCG y BCG solo; se encontró a los 80 días una conversión de la prueba del Montenegro de 36.2% y 7.9% respectivamente y de 33%, y 19% después de un año de aplicada la dosis. Por otra parte, observaron que la incidencia de la LC después de dos años de seguimiento fue muy similar en ambos grupos (18% y 18.5%, respectivamente) (24).

Bahar y col (22) recomiendan emplear vacunas con concentraciones bajas de proteína, ya que se ha visto que bajas dosis tienden a inducir una respuesta tipo Th1; recomiendan además vacunar con parásitos autoclavados debido a la mayor estabilidad que encuentran en la vacuna. Sin embargo, el estudio realizado en el Brasil con la vacuna de Biobras, mostró que la vacuna obtenida a partir de promastigotes autoclavados de *L. (L.) amazonensis* (Leishvacin®) perdía estabilidad un año después de su fabricación (18).

Vacunas de segunda generación: se elaboran a partir de parásitos manipulados genéticamente o a partir de algunas de sus proteínas purificadas mediante técnicas de ingeniería genética. Se clasifican en tres categorías: 1) Vacunas vivas, que incluyen cepas recombinantes de *Leishmania* y vectores vivos transformados con proteínas aisladas de los parásitos; 2) Fracciones crudas; y 3) Moléculas recombinantes (2, 9, 25). Las vacunas de segunda generación se han ensayado en modelos animales (Fase 0) y hasta ahora no se han ensayado en humanos.

1. Vacunas vivas: entre éstas se han evaluado algunos tipos de microorganismos vectores de moléculas recombinantes del parásito o los parásitos enteros mutados.

Leishmania recombinante: consiste en una cepa virulenta de *L. (L.) major* modificada por ingeniería genética denominada *dhfr/ts*, la cual es auxotrófica dado que requiere timidina para su crecimiento. La

cepa se evaluó en macrófagos y en ratones *Balb/c* susceptibles a la infección por *L. (L.) major*. Los ensayos mostraron que los parásitos perdían la capacidad de multiplicarse dentro de los macrófagos y los ratones susceptibles no desarrollaron la enfermedad después de ser retados con la cepa virulenta (26).

Bacterias y virus recombinantes: en estas vacunas se emplean como vectores bacterias o virus que expresan genes que codifican para proteínas de *Leishmania*. Es el caso de la bacteria *Salmonella typhimurium* AroA" AroD~ transformada para expresar la glicoproteína gp63 de la *L. (L.) major* (27, 28) y el virus de la vaccinia que expresa la glicoproteína de membrana gp46/M-2 (29). Estos sistemas han mostrado ser seguros y eficaces en la protección de ratones susceptibles (*Balb/c*) cuando son retados con cepas virulentas de *L. (L.) amazonensis* (27-29).

2. **Fraciones crudas:** las vacunas preparadas a partir de fracciones crudas se obtienen de proteínas que son importantes en la biología de los parásitos. Entre las proteínas que han sido bien estudiadas se incluyen el lipofosfoglicano (LPG) y la gp63 que están involucradas en el mecanismo de infección de los parásitos a los macrófagos (25).

El LPG es un glicoconjugado presente en la superficie de los promastigotes de todas las especies de *Leishmania* y permite la internalización y posterior supervivencia de los parásitos en el interior de los macrófagos del hospedero vertebrado (30). Actualmente se está evaluando el potencial inmunogénico tanto del LPG como de moléculas asociadas como el LPG-1, el LPG-2 y el LPG-AP (30, 31).

La gp63, que es una de las principales proteasas de superficie de la *Leishmania*, ha sido evaluada y postulada como una buena candidata para hacer parte de una vacuna mixta debido a que muestra ser inmutuamente activa (13, 31, 32).

3. **Moléculas recombinantes:** las vacunas fabricadas a partir de moléculas recombinantes incluyen antígenos específicos de *Leishmania* que son inductores de la respuesta celular tipo Th1, los cuales han sido clonados y expresados en sistemas procariotes. Son varias las moléculas que actualmente se presentan como candidatas, entre las cuales están: la proteína de 80 KDa de *L. (L.) donovani* (p80) (33); una porción de 24 KDa de una proteína conservada de *L. (L.) major* (p24) aplicada con IL-12 como adyuvante (34); un antígeno de *L. (L.) chagasi* seleccionado de una librería de ADNc (*Lcr1*) (35); el antígeno de superficie de promastigotes *psa-2* clonado en *E. coli* y en promastigotes de *L. (L.) mexicana* (36); un componente del LPG conocido como la proteína de membrana de los kinetoplastos de 11 KDa (*kmp-11*) (37); la proteína recombinante de 33 KDa (*Larp33*) (38); ADN que codifica para el antígeno *Lack*, proteína de 36

KDa altamente conservada en amastigotes y promastigotes de las especies de *Leishmania* (39) y la proteína TSA de 21 KDa aislada de la *L. (L.) major* (40).

7 cbWi g]Øb'

Los resultados obtenidos con las vacunas de primera generación muestran algunas inconsistencias posiblemente debidas a las grandes diferencias epidemiológicas de la enfermedad y a las variaciones genéticas que existen en los individuos vacunados. Por otro lado, los estudios con vacunas de segunda generación únicamente se han llevado a cabo en modelos animales, especialmente el murino, donde la respuesta es muy diferente a la encontrada en los humanos, lo que señala la necesidad de continuar los estudios de este tipo de vacunas. Dado que las proteínas analizadas hasta ahora han mostrado una protección parcial contra la infección por cepas virulentas de *Leishmania*, actualmente se busca una mezcla de moléculas para así incluir diferentes epitopes antigénicos, lo que en última instancia aumentaría el espectro de protección.

Todos los trabajos realizados hasta ahora muestran el interés por elaborar una vacuna para controlar esta enfermedad que cada vez afecta a más personas que residen o visitan regiones tropicales o subtropicales, incluyendo los países desarrollados, donde ha aumentado la incidencia de la enfermedad en pacientes coinfectados con el VIH. En la búsqueda de la vacuna, múltiples grupos en el mundo avanzan en el conocimiento de los mecanismos de invasión y de defensa que se presentan entre el parásito y el hospedero.

Gi a a Ufm

Objective: to review the design and methods of evaluation of vaccines against leishmaniasis.

Data sources: Pubmed search from 1990 to 1999 crossing the word "leishmaniasis" and "vaccine". In addition, were included the progress reports presented in the workshops organized by The World Health Organization.

Study selection: forty out of 166 articles were selected referent to safety, immune response or efficacy of the vaccine candidate.

Data extraction: articles about safety and efficacy included only assays in humans and articles about immune response both humans and murine model.

Data synthesis: the tropical disease leishmaniasis has an estimated growing rate of 500,000 cases per year. Its treatment and control are difficult because of its clinical and epidemiological characteristics. At the moment, all efforts point towards the development of vaccines that can be used in the different infection focus. The development of the vaccine has gone through different stages, from the empirical trials with parasites extracted of lesions and the use of dead or attenuated parasites, to the application of genetic engineering

techniques for the selection of proteins with immunogenetic characteristics.

Conclusion: different approaches to the vaccine have been made without standing results in some cases and contradictory in others. To continue the search of the vaccine is important to consider the result obtained until now.

Key words: Leishmaniasis, vaccine.

Agradecimientos

Al Dr. Iván Darío Vélez, director del PECET y tutor de mis estudios de maestría, y a las Dras. Sara María Robledo y Sonia del Pilar Agudelo.

Referencias

- Liew FY, O'Donnell CA. Immunology of leishmaniasis. In: *Advances in Parasitology*. Academic Press Limited 1993;32:161-192
- World Health Organization. Leishmaniasis. In: *Tropical Disease Research, Thirteenth Program Report Progress 1995-1996*. World Health Organization; 1997;100-111.
- Convit J. Leishmaniasis: Immunological and clinical aspect and vaccines in Venezuela. *Clin Dermatol* 1996;14:479-487.
- Moreno G., Rioux JA., Lanotte G., Pralong F, Serres E. Le complexe *Leishmania donovani*. Analyse enzymatique et traitement numérique individualisation du complexe *Leishmania infantum* corollaires biogeographiques et phyletiques. A propos de 146 souches originaires de l'Ancien et du Nouveau Monde. In *Leishmania*. Taxonomie et Phylogenese. Applications eco-epidemiologiques (Coll. Int. CNRS/INSERM, 1984). IMEEE. Montpellier. 1986:105-117.
- Grimaldi G. Meeting on vaccine studies towards the control of leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1995;90:553-556.
- World Health Organization. Workplan of the steering committee on vaccines for leishmaniasis, www.who.ch/programmes/tdr/workplan/leishmania.htm. 1997.
- Genaro O, Cohelo VP, Da Costa CA, Hermeto MV, Crocco LC, Mayrink W. Vaccine for prophylaxis and immunotherapy. Brazil. *Clin Dermatol*. 1996;14:503-512.
- Organización Panamericana de la Salud. Métodos de investigación epidemiológica en enfermedades transmisibles. Fundación Nacional de la Salud/ Centro Nacional de Epidemiología. 1 edición, 1997.
- Modabber F. Vaccine against leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 1995;89:83-8: 0
- Zicker F. Clinical trial for the epidemiological evaluation of vaccine. Workshop on vaccine efficacy trial against leishmaniasis 1995; Salvador. Bahia, Brazil, Feb. 13-22.
- Velez ID. La leishmaniasis cutánea en la cuenca del Mediterráneo. *An Acad Med Medellin* 1989;2:159-165.
- Dowlati Y, Ehsasi S, Shidani B, Bahar K. Stepwise safety trial of a killed *Leishmania* vaccine in Iran. *Clin Dermatol* 1996;14:497-502.
- Nascimento E, Mayrink W, Da Costa CA, Michalick MSM, Melo MN, Barros GC, et al. Vaccination of humans against cutaneous leishmaniasis: Cellular and humoral responses. *Infect Immun* 1990;58:2198-2203.
- Mendonca SF, De Luca PM, Mayrink W, Restom TM, Conceicao-Silva F, Da Cruz AM, et al. Characterization of human T lymphocyte responses induced by a vaccine against American tegumentary leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53:195-201.
- Hermeto MV, Vieira-Dias D, Toledo VPCP. Immune response in human vaccinated with different forms of a kill *Leishmania* promastigotes vaccine. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994;89:171.
- Marzochi K, Marzochi M, Silva AF, Cuba J, Grativol N, Duarte R, et al. Phase I studies for Leishvacin (kill *Leishmania* vaccine) in Brazil. Workshop on vaccine efficacy trial against leishmaniasis 1995; Salvador, Bahia, Brazil, Feb. 13-22.
- Mendonca S, De Luca P, Oliveira MP, Bertho AL, Coutinho SG, Toledo VPCP, et al. Studies on the immunogenicity of the single strain (PH8) Leishvacin. Workshop on vaccine efficacy trial against leishmaniasis 1995; Salvador, Bahia, Brazil, Feb.13-22.
- De Luca PM, Mayrink W, Alves CR, Coutinho SG, Oliveira MP, Bertho AL, et al. Evaluation of the stability and immunogenicity of autoclaved and nonautoclaved preparations of a vaccine against American tegumentary leishmaniasis. *Vaccine* 1999;17:1179-1185.
- Armijos R, Weigel M, Aviles H, Maldonado R, Racines J. Field trial of a vaccine against new world cutaneous leishmaniasis in an At-risk child population: safety, immunogenicity and efficacy during the first 12 months of follow up. *J Infect Dis* 1998;177:1352-1357.
- Sharples C, Shaw MA, Castes M, Convit J, Blackwell JM. Immune response in healthy volunteers vaccinated with BCG plus killed leishmanial promastigotes: antibody response to mycobacterial and leishmanial antigens. *Vaccine* 1994;12:1402-1412.
- Castes M, Blackwell J, Trujillo D, Formica S, Cabrera M, Zorrilla G, et al. Immune response in healthy volunteers vaccinated with BCG plus killed leishmanial promastigotes plus BCG. I: skin test reactivity, T cell proliferation and interferon gamma production. *Vaccine* 1994;12:1041-1051.
- Sharifi I, Fekri AR, Aflatonian MR, Khamesipour A, Nadim A, Modabber W, et al. Randomized vaccine trial of single dose of killed *Leishmania major* plus BCG against anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Bam, Iran. *Lancet* 1998;35:1540-1549.
- Bahar K, Dowlati Y, Pharm D, Shidani B, Alimphammadian MH, Modabber F, et al. Comparative safety and immunogenicity trial of two killed *Leishmania major* vaccines with or without BCG in human volunteers. *Clin Dermatol* 1996;14:489-495.
- Momeni AZ, Jalayer T, Emamjomeh M, Khamesipour A, Zicker F, Ghassemi RL, et al. A randomized, double-blind, controlled trial of a killed *L. major* vaccine plus BCG against zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. *Vaccine* 1999;17:466-472.
- Modabber F. Vaccine the only hope to control leishmaniasis. In: *Molecular and immune mechanisms in the pathogenesis of cutaneous leishmaniasis* Editores R.G. Landes Company, 1996:223-233.
- Titus RG, Gueiros-Filho, De Freitas LAR, Beverley SM. Development of a safe live *Leishmania* vaccine line by gene replacement. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92:10267-10271.
- McSorley SJ, Xu D, Liew FY. Vaccine efficacy of *Salmonella* strains expressing glycoprotein 63 with different promoters. *Infect Immunol* 1997;65:171-178.
- Soo SS, Villarreal-Ramos B, Anjam Khan CM, Hormaeche CE, Blackwell JM. Genetic control of immune response to recombinant antigen carried by attenuated *Salmonella typhimurium* vaccine strain: Nramp1 influences T-helper subset responses and protection against *Leishmania* challenge. *Infect Immun* 1998;66:1910-1917.
- McMahon-Pratt D, Rodriguez D, Rodriguez JR, Zhang Y, Manson K, Bergman C, et al. Recombinant vaccinia viruses expressing GP46/M-2 protect against *Leishmania* infection. *Infect Immun* 1993;61:3351-3359.
- Russo DM, Turco SJ, Burns JM, Reed SG. Stimulation of human T lymphocytes by *Leishmania* lipophosphoglican-associated protein. *J Immunol* 1992;148:202-207.
- Kurtz JAL, Hey AS, Jardim A, Kemp M, Schaefer KU, Odera EO, et al. Dichotomy of the human T cell response to *Leishmania* antigen K: Absent of Th2-like response to gp63 and Th1-like response to lipophosphoglican-associated protein in cells from cured visceral leishmaniasis patients. *Clin Exp Immunol* 1994;96:416-421.
- Lezama-Davila CM. Vaccination of different strains of mice against cutaneous leishmaniasis: Usefulness of membrane antigens encapsulated into liposomes by intraperitoneal and subcutaneous administration. *Arch Med Res* 1997;28:47-53.
- White AC, McMahonpratt D. Prophylactic immunization against experimental *Leishmania donovani* infection by use of a purified protein vaccine. *J Infect Dis* 1990;161:1313-1314.
- Mougueau E, Altare F, Wakil AE, Zheng S, Coppola T, Wang Z, et al. Expression cloning of a protective *Leishmania* antigen. *Science* 1995;268:563-566.
- Wilson ME, Young BM, Andersen KP, Weinstock JV, Metwali A, ali KM, Donelson JE. A recombinant *Leishmania chagasi* antigen that stimulates cellular immune responses in infected mice. *Infect Immun* 1995;63:2062-2069.
- Handman E, Symons FM, Baldwin TM, Curtis JM, Scheerlinck JPY. Protective vaccination with promastigote surface antigen 2 from *Leishmania major* is mediated by a Th1 type of immune response. *Infect Immun* 1995;63:4261-4267.
- Berberich C, Requena JM, Alonso C. Cloning of genes and expression and antigenicity analysis of the *Leishmania infantum* KMP-11 protein. *Exp Parasitol* 1997;85:105-108.

38. **Fernandes AP, Herrera EC, Mayrink W, Gazzinelli RT, Liu WY, da Costa CA, et al.** Immune response induced by a *Leishmania (Leishmania) amazonensis* recombinant antigen in mice and lymphocytes from vaccinated subjects. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1997;**39**:71-78.
39. **Gurunathan S, Sacks DL, Brown DR, Reiner SL, Charest H, Glaichenhaus N, et al.** Vaccination with DNA encoding the immunodominant LACK parasite antigen confers protective immunity to mice infected with *Leishmania major*. *J Exp Med* 1997;**186**:1137-1147.
40. **Webb JR, Campos-Neto C, Owendale PJ, Martin TI, Stromberg EJ, Badaro R, et al.** Human and murine immune responses to a novel *Leishmania major* recombinant protein encoded by members of a multicopy gene family. *Infect Immun* 1998;**66**:3279-3289.