

# Actualización de las nuevas vacunas frente a la tuberculosis

---

ANA MARÍA CORDERO CRUZ, RUTH GIL PRIETO Y ANGEL GIL DE MIGUEL.

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública e Inmunología y  
Microbiología Médicas de la Universidad Rey Juan Carlos.

e-mail: angel.gil@urjc.es

## RESUMEN

La tuberculosis causada por *Mycobacterium tuberculosis* es una enfermedad infectocontagiosa que afecta a más de una tercera parte de la población mundial. El objetivo de la vacunación es el de mejorar la respuesta inmune frente la tuberculosis y reducir la incidencia de la enfermedad activa. Desde hace más de 100 años se lleva utilizando la vacuna BCG derivada de una cepa atenuada de *Mycobacterium bovis*, denominada bacilo de Calmette-Guérin, para la prevención de la TB. La vacuna BCG tiene una eficacia variable, además de que su protección es transitoria y no se puede administrar en personas ya infectadas. En base a nuevos conocimientos sobre el genoma de *Mycobacterium tuberculosis* y la respuesta inmunitaria antituberculosa se han propuesto más de 200 nuevas posibles vacunas. En este trabajo se hace una revisión de la nueva generación de vacunas candidatas para la prevención y el tratamiento de la tuberculosis.

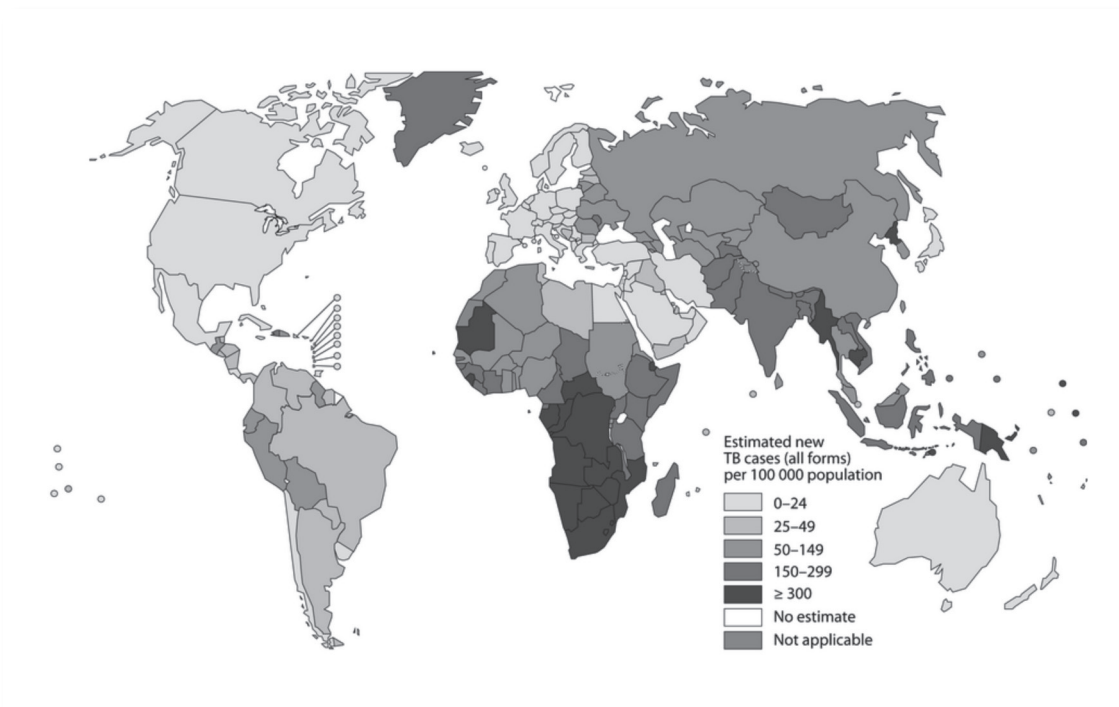
Palabras clave: vacuna BCG, prevención tuberculosa, vacunas terapéuticas

## Aspectos generales de la tuberculosis.

A La tuberculosis está producida por el *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), descubierto en 1882 por Koch. Otras micobacterias relacionadas son la *M. bovis*, la *M. africanum* y la *M. ulcerans*. Las llamadas micobacterias atípicas infectan al hombre, provocan una respuesta inmune,

pero rara vez ocasionan enfermedad, salvo en inmunodeficiencias como la infección por VIH<sup>1</sup>.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que provoca una alta morbilidad y mortalidad en el mundo. El nombre de tuberculosis deriva de la formación de unas estructuras celulares características denominadas tuberculomas donde los bacilos quedan encerrados. La pulmonar es la forma más común de tuberculosis, así como la más importante



**Figura 1.** Tasa de Incidencia de tuberculosis a nivel mundial en 2011

Fuente: Informe de la Organización Mundial de la Salud. 2012. <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>

en términos epidemiológicos. Se estima que una tercera parte de la población mundial se encuentra infectada con el bacilo de Koch. En el año 2010 se registraron 8,8 millones de nuevos casos y 1,1 millones de muertes anuales en los VIH negativos y 350.000 en los VIH positivos<sup>2</sup>.

En España, según los datos recientemente publicados por el Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III, en el año 2010 se notificaron de forma individualizada 7.162 casos de tuberculosis, lo que corresponde a una tasa de incidencia de 15,54 casos por 100.000 habitantes. Del total de casos, 5.351 corresponden a tuberculosis pulmonar, 100 a meningitis tuberculosa, y 1.711 a tuberculosis de otras localizaciones (tasas de 11,61; 0,22 y 3,71 casos por 100.000 habitantes, respectivamente). La tasa global descendió un 8,4% respecto al año 2009, debido principalmente al descenso de la tuberculosis pulmonar, que fue de un 11%. Dentro de la UE, España es considerada un país de baja incidencia de tuberculosis, siendo menor de 20 casos/100.000 habitantes (figura 2).<sup>3</sup>

## Vacuna BCG.

Desde hace más de 100 años se utiliza el Bacilo de Calmette-Guérin (BCG) para la prevención de la TB. La vacuna de BCG se llama así por estar compuesta por el bacilo de Calmette y Guerin. Albert Calmette (Niza, 1863-París, 1933) y Camille Guerin (Poitiers, 1872-París, 1961), respectivamente, médico y veterinario, trabajaron juntos desde el año 1907 a 1919 en la atenuación de bacilos de *M. bovis* realizando 230 cultivos sucesivos en un medio de glicerina, patata y bilis hasta conseguir la pérdida de su poder patógeno, manteniendo la antigenicidad. Esta vacuna viva atenuada (bacilo de Calmette-Guérin, o BCG) comenzó a usarse masivamente en Europa en 1921 para la prevención de la tuberculosis, y actualmente forma parte de los programas nacionales de vacunación en los países miembros de la OMS<sup>4</sup>.

Calmette y Guerin obtuvieron su vacuna de forma empírica, sin conocer en qué radicaba el diferente comportamiento entre el patógeno, *Mtb*, y su vacuna. Sólo ahora,

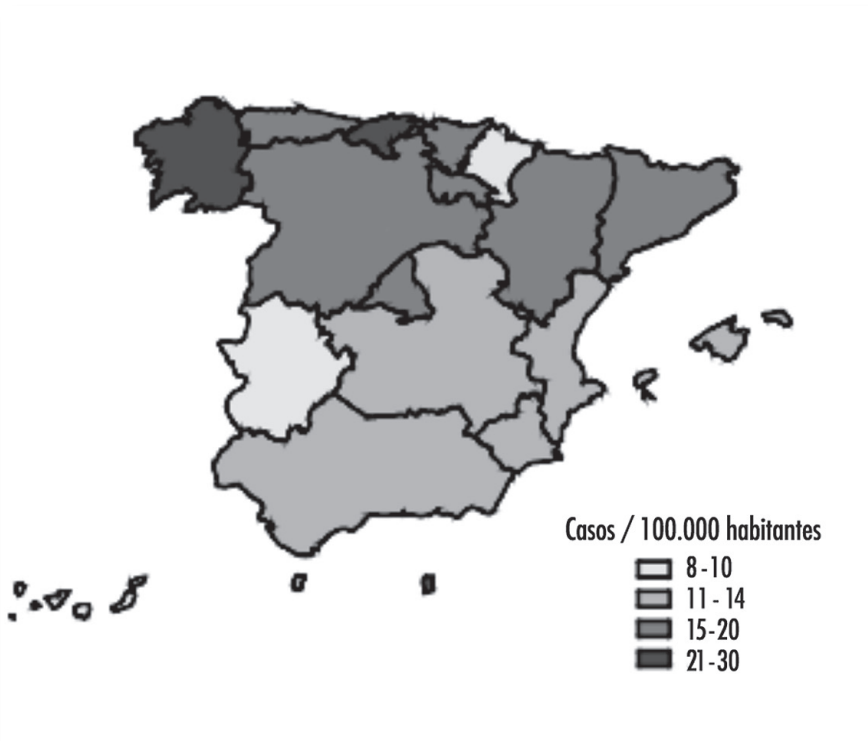


Figura 2. Tasa de incidencia de tuberculosis por Comunidades Autónomas, 2010.

Fuente: Centro Nacional de Epidemiología con datos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica

con los avances genéticos y el descubrimiento del genoma del *Mtb*, se sabe que en los sucesivos pases se iban perdiendo genes y que en ello radica la atenuación de patogenicidad. Sin embargo, la BCG aún comparte más del 90% de su ADN con el *Mycobacterium tuberculosis*<sup>5</sup>.

### Indicaciones y contraindicaciones

La indicación universal depende del riesgo de infección tuberculosa que ocurra en el país y la indicación individual de la existencia de un contacto mantenido e inevitable con una persona enferma. Entre las contraindicaciones más comunes destacan la prematuridad con menos de 2.000 g al nacimiento, la inmunosupresión o inmunodeficiencia, como la de los pacientes con SIDA (salvo casos de muy alto riesgo, entre los que se incluyen los lactantes infectados con VIH), debido al riesgo de infección diseminada. También está contraindicada en enfermos de tuberculosis o infectados con prueba de tuberculina positiva y durante el embarazo, principalmente en el primer trimestre<sup>6</sup>.

### Eficacia de la vacuna con BCG

La vacuna protege contra las formas graves de tuberculosis en el niño (meningitis TB y tuberculosis miliar), pero su eficacia en la prevención de la tuberculosis pulmonar en el adulto es muy variable<sup>7</sup>. A pesar de que la vacuna BCG es segura para su administración en el recién nacido, (aproximadamente 100 millones de niños son inmunizados con BCG cada año), uno de los problemas que presenta es la amplia variabilidad en el grado de protección que se logra inducir, particularmente cuando se administra a personas en edad adulta<sup>8</sup>. Se ha determinado que la eficacia de dicha vacuna varía desde 0 hasta el 80%, dependiendo de diversos factores como son: la cepa vacunal administrada, la edad del paciente al momento de la aplicación, la exposición previa del paciente a micobacterias no tuberculosas presentes en el medio ambiente y, desde luego, la participación de factores genéticos intrínsecos asociados al montaje de la respuesta inmune derivada de la vacunación<sup>9</sup>.

Otro de los factores que impactan en la eficacia de la vacuna con BCG parece ser la localización geográfica de la población a la que se aplique. En términos generales el grado más alto de protección se obtiene en las poblaciones más alejadas del ecuador. Por lo anterior, aunque la BCG se aplica de manera generalizada a los recién nacidos en países con incidencia de tuberculosis alta, como los ubicados en Asia y África, en países donde la incidencia de tuberculosis es baja (como en Austria, Finlandia, Gran Bretaña, etc.) la vacunación se recomienda sólo a los individuos que se encuentren en situación de riesgo al contagio<sup>10</sup>.

## Nuevas estrategias de prevención.

### Objetivo

El objetivo de las nuevas vacunas es conseguir una protección más duradera y un mayor porcentaje de eficacia. Estas características deben alcanzarse sin perder otras que la BCG posee: de seguridad, bajo coste, aplicabilidad a cualquier población y compatibilidad con el resto del calendario vacunal. Además, a pesar de la dificultad que ello supone, sería muy interesante que fuera eficaz en los casos de reactivación y reinfección de la TB<sup>11-12</sup>.

En marzo de 2012, el grupo de trabajo Stop Tuberculosis Partnership's Working Group dedicado a las nuevas vacunas frente a la TB publicó un plan estratégico<sup>13</sup> que traza el curso futuro de la investigación sobre la vacuna de la tuberculosis y pretende ser una guía para todas aquellas partes implicadas, desde los investigadores a los dirigentes políticos. El plan esboza los principales retos científicos y las prioridades que deben ser abordadas para desarrollar vacunas que salven vidas frente a la enfermedad de la tuberculosis y que están estructuradas en cinco áreas prioritarias:

- Creatividad en la investigación y el descubrimiento. La cuestión principal que se plantea es por qué ciertos individuos infectados con *M. tuberculosis* son resistente a la enfermedad de la TB.
- Establecimiento de una correlación entre la inmunidad y los biomarcadores para vacunas contra la tuberculosis.
- Ensayos clínicos basados en la armonización y la cooperación. La principal cuestión que se plantea es si las vacunas de TB pueden reducir eficazmente la transmisión de *M. tuberculosis*.
- Selección racional de candidatos para una nueva vacuna contra la TB. Esta área prioritaria aborda el reto de que todas las líneas de investigación abiertas compartan una serie de criterios uniformes para la selección y el desarrollo de nuevas vacunas contra la tuberculosis.
- Importancia de la necesidad de colaboración, promo-

ción y financiación. Aquí, el énfasis está puesto en desarrollar enfoques de financiación innovadores para conseguir financiamiento para la obtención de vacunas contra la tuberculosis.

### Población diana

Según la información recogida de la experimentación inmunitaria desarrollada y de los ensayos clínicos se plantean dos tipos de poblaciones a proteger, que muy probablemente van a necesitar distintas estrategias vacunales y preparados<sup>1</sup>.

En primer lugar, estaría un tipo de población no infectada, formada por individuos que hasta ese momento no han tenido ningún contacto con el *Mtb* y quizás tampoco con micobacterias atípicas. Estaría compuesto preferentemente de recién nacidos y lactantes con un sistema inmunitario virgen.

En segundo lugar, se encontraría la población infectada, integrada por las personas con formas latentes de tuberculosis, que se calcula son más del 90% de las infectadas. En ellas, se ha comprobado que el *Mtb* consigue modificar la respuesta inmunitaria y, además, aparecen en el huésped nuevos antígenos tuberculosos que no estaban expresados por el bacilo infectante.

Un subgrupo especial estaría formado por los propios enfermos tuberculosos para los que la administración de la vacuna sería una forma de inmunoterapia coadyuvante simultánea a la terapia anti-tuberculosa.

## Nuevas Vacunas contra la TB

Actualmente, las estrategias seguidas en los ensayos clínicos actuales de las vacunas se centran en obtener una vacuna BCG más inmunogénica, con la esperanza de aumentar la protección. Existen vacunas en fase de desarrollo que podrían utilizarse para la infección, vacunas profilácticas, o para prevenir la progresión primaria hacia la enfermedad o la reactivación de la TB latente. También se están llevando a cabo ensayos para obtener vacunas que

Vacuna candidata	Tipo de vacuna	Vector/Sistema Adyuvante	Antígeno (locus H37Rv)	Fase Ensayo Clínico	Referencias
Ad5Ag85A	Vector viral	Adenovirus Recombinante serotipo 5	Ag85A (Rv 3804c)	Fase I	(15)
Hybrid1 (H1)	Adyuvante subunidad proteica	Proteína recombinante con IC-31 o CAF01	ESAT6 (Rv3785) fusionado con Ag85B	Fase I	Dietrich et al., 2005
Aeras-404 (H4)	Adyuvante subunidad proteica	Proteína recombinante con IC-31	TB10.4(Rv0288) fusionado con Ag85B	Fase I	(16)
Hybrid56	Adyuvante subunidad proteica	Proteína recombinante con IC-31 o CAF01 ambos fusionados con Ag85B	ESAT6 (Rv3785) R2660 <sup>L</sup>	Fase I	(17)
ID93/GLA-SE	Adyuvante subunidad proteica	ID93(fusión de cuatro proteínas) con GLA-SE (lípidio glucopiranosilA)	Rv3619 Rv1813c Rv3620c Rv2608	Fase I	Bertholet et al., 2008, 2010
VMP1002	Vector bacteriano	rBCGAureC:Hly-Listeriolisina O de L. monocytogenes		Fase Ib	Geoffroy et al., 1987; Hess and Kaufmann, 1999; Horwitz and Harth, 2003; Cai et al., 2004; Olsen et al., 2004
Mtb72F/AS01E	Adyuvante vacuna subunidad	Proteína recombinante con sistema adyuvante AS01	Mtb39a (Rv1196) Mtb32a (Rv0125)	Fase II	(18,19)
MVA85A/AERAS-485	Vector viral	Virus vaccinia Ankara modificado (MVA)	Ag85A (Rv3804c)	Fase IIb	McShane et al., 2004
CruceII/AERAS-402	Vector viral	Adenovirus 35 (Ad35) con replicación defectiva fusionado con una proteína recombinante	Ag85A (Rv3804c) Ag85B (Rv1886c) TB10.4 (Rv0288)	Fase IIb	Abel et al., 2010
RUTI	Fragmentos bacterianos	Fragmentos de M. tuberculosis transportados en liposomas	Poliantigénico	Fase II	(20,21)
MIP	Mycobacterium inactivada por calor	Mycobacterium indicus pranii	Poliantigénico	Fase III	(22)
MOD-901	Mycobacterium inactivada por calor	Mycobacterium vaccae	Poliantigénico	Fase III	(23) (24)

Tabla 1. Vacunas contra la Tuberculosis: candidatas que están actualmente ensayos clínico.

podrían usarse como agentes inmunoterapéuticos, también denominadas vacunas terapéuticas, para mejorar la capacidad de respuesta a la quimioterapia en pacientes infectados<sup>1</sup> (tabla 1).

Se están desarrollando dos líneas diferentes de trabajo para obtener vacunas para la prevención de la TB<sup>26</sup>. La primera línea trata de desarrollar vacunas que sustituirían a la BCG, para evitar el riesgo de infección asociada con la vacuna actual en pacientes con VIH<sup>24</sup>, pudiendo ser una versión mejorada de BCG o una nueva vacuna viva atenuada *M. tuberculosis*. La segunda está basada en la estrategia de refuerzo inductor, "prime-boost", que consiste en administrar en una etapa posterior una vacuna adicional tras la administración de BCG que se administraría a los lactantes junto a otras vacunas en 3-9 meses de edad y como un protocolo de refuerzo en los adultos jóvenes.

De los 12 candidatos de vacunas en ensayo clínico, 11 son para prevención de la TB y uno es una vacuna inmunoterapéutica.

### Vacunas vivas recombinantes derivadas de BCG

Se han desarrollado sistemas vacunales basados en vectores bacterianos que modifican la clásica vacuna BCG para conseguir aumentar su capacidad protectora. En este sentido, destacan los sistemas recombinantes basados en la cepa BCG (r-BCG). Los mejores resultados se han obtenido mediante la modificación de BCG, que deriva en la sobreexpresión del Ag85B (rBCG30), proteína de 30 KDa, logrando una inducción de la respuesta inmune superior a la conseguida con la administración parenteral de la BCG, y son resultados derivados de un ensayo clínico fase I.<sup>27</sup>

Otra posible vacuna interesante basada en esta misma estrategia, actualmente en ensayo clínico fase Ib es VMP1002<sup>28,29</sup>, consiste en la construcción de cepas r-BCG en las que se ha eliminado el gen de la ureasa y se ha introducido un gen de la *Listeria monocytogenes* que expresa listeriolisina, provocando modificaciones del pH y de la pared de los lisosomas de las células que fagocitan los bacilos BCG, facilitando su salida al citosol. Esta cir-

cunstancia, que no ocurre en la BCG clásica, favorece la presentación de antígenos de clase I de la micobacteria a las células T CD8+, proceso que en el caso de la vacunación con BCG se considera ineficiente<sup>25</sup>.

### Vacuna de refuerzo

Debido a que la inmunidad obtenida con la vacunación de BCG disminuye con el paso del tiempo, la estrategia de refuerzo inductor trata de aumentar la inmunidad y la protección generada anteriormente por la vacunación con BCG.

En los sistemas vacunales de este tipo se emplean vectores virales en los que se expresan antígenos micobacterianos con probada capacidad inmunogénica. Una vacuna de este tipo es la basada en el virus Ankara (r-MVA) modificado genéticamente para expresar el Ag85 (MVA85A) (30). Esta vacuna atenuada se ha diseñado como vacuna de refuerzo para niños, adolescentes y adultos, y se encuentra en estudios de fase clínica IIB, y se evaluó entre 2009 y 2011 en Sudáfrica sobre 2797 niños. Los resultados se esperan a principios de 2013. Desde el 2011, se está desarrollando otro ensayo fase IIB en adultos infectados por el VIH en Senegal y Sudáfrica, contando con 1400 sujetos reclutados<sup>14</sup>.

En otras vacunas virales candidatas muy prometedoras parcialmente basadas en el uso de la secuencia codificante del Ag 85, se emplean vectores vacunales de origen viral de replicación defectiva. Destacan el adenovirus recombinante serotipo 5 (Ad5Ag85A), que expresa el antígeno 85A cuya capacidad inmunógena y seguridad está siendo actualmente evaluada<sup>15</sup>, y adenovirus recombinante serotipo 35 que expresa los antígenos 85A, 85B y TB10.4 que está siendo evaluado en un ensayo clínico denominado AERAS-402/Crucell que está ya en fase IIB<sup>31</sup>.

Debido a cuestiones de seguridad en la administración de vacunas vivas o atenuadas, particularmente en pacientes inmunosuprimidos, así como a los aspectos técnicos de producción, almacenamiento y transporte, las vacunas vivas atenuadas presentan limitaciones para su aplicación a gran escala. Por este motivo, se están empleando vacunas de subunidades para el recuerdo inmunitario por la capa-

cidad del DNA desnudo para ser incorporado por las células adyacentes al sitio de inoculación y de ser transcrito por la maquinaria de la célula para producir un péptido o una proteína completa, que se encuentra clonada en un vector de expresión. El antígeno producido se procesa proteolíticamente y sus péptidos se presentan en el contexto de las moléculas de clase I del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), o bien estos péptidos pueden ser liberados y posteriormente captados por células presentadoras profesionales de antígenos para su presentación a las células T, en el contexto de moléculas de clase II. Por lo que es decisivo en esta técnica, la elección de un antígeno presente en la BCG de la primovacuna, con fuerte inmunogenicidad y para el que haya persistido memoria inmunológica<sup>32</sup>.

Entre las principales ventajas de este sistema, se encuentra el ser fáciles de obtener a gran escala mediante ingeniería genética. Sin embargo, en estudios preclínicos estas vacunas de ADN han presentado una baja efectividad, necesitando de dosis altas de la vacuna para lograr un efecto protector<sup>33</sup>.

Actualmente, los ensayos clínicos en proceso, incluyen la vacuna subunidad M72 (Mtb72F/AS01) (18,19), que se encuentra en fase II, y que está formada por una serie de proteínas recombinantes antigénicas que inducen una fuerte respuesta CD4+ y CD8+ en modelos animales y sujetos sanos con un resultado positivo en la prueba diagnóstica de la tuberculina<sup>34</sup>.

Otra vacuna candidata en ensayo clínico, en este caso fase I, es AERAS-404 (Hybrid 4), basada en una proteína recombinante obtenida de la fusión del Ag85B y TB10.4<sup>16</sup>

H56-IC3 es otra vacuna candidata en ensayo clínico. Está formada por un antígeno asociado al periodo de latencia de la TB (Rv2660c) junto con Ag85B, ESAT-6 y el adyuvante IC31<sup>17</sup>.

## Vacunas Terapéuticas

Hasta hace poco tiempo, la profilaxis de la tuberculosis se centraba principalmente en la profilaxis primaria de sujetos que no habían tenido ningún contacto con Mtb,

especialmente recién nacidos. Sin embargo, ante la alta incidencia de la enfermedad y el alto riesgo de contagio y diseminación por lo que se buscan vacunas que actúen como inmunoterapia coadyuvante.

Un candidato de vacuna terapéutica es RUTI<sup>20,21</sup>, un fragmento celular de Mtb inactivado por calor, que ya se encuentra en un estudio clínico fase II en España, que trata de comparar tres dosis diferentes de esta vacuna tras un mes de la administración de isoniazida en enfermos adultos HIV positivos y negativos. Los resultados, hasta el momento, demuestran que el preparado es bien tolerado y la eficacia está siendo actualmente evaluada.

Además, dos cepas de micobacterias inactivadas por calor, *M. indicus* (MIP)<sup>22</sup> y *M. vaccae* (MOD-901)<sup>23-24</sup> están siendo evaluadas en sendos ensayos clínicos fase III en combinación con el tratamiento quimioterápico para la infección por Mtb.

## Conclusiones

Está claro que la vacuna BCG, de amplio uso, no es eficaz para prevenir la tuberculosis pulmonar en adultos en muchas regiones del mundo. Nuevas investigaciones clínicas sobre BCG abordan importantes interrogantes sobre las correlaciones inmunitarias y la inmunización comparativa de las poblaciones destinatarias. Estas investigaciones han sentado la base para las pruebas de nuevas vacunas antituberculosas en los países endémicos. En su evaluación clínica deberán abordarse muchas cuestiones críticas, como su uso en poblaciones infectadas por el Mtb y el VIH, con enfermedad tuberculosa activa o vacunadas con BCG. La búsqueda del desarrollo de nuevas vacunas eficaces contra la tuberculosis y de su introducción a los países más necesitados dependerá del esfuerzo conjunto de muchos asociados en la comunidad y, lo que es más importante, del compromiso del personal de salud en las naciones donde la tuberculosis es endémica<sup>35</sup>.

En la actualidad la investigación en vacunas contra la tuberculosis se encuentra en un momento crucial. Si bien la última década se centró en el descubrimiento de nuevas

vacunas candidatas y su paso desde el laboratorio a los primeros ensayos clínicos, la actual década está centrada en consolidar este progreso<sup>29</sup>. Esto implica conocer la eficacia de vacunas en desarrollo clínico y la identificación de los tan necesarios marcadores de protección inmunitaria que serán de gran ayuda en la selección de la próxima generación de vacunas candidatas, además de sentar las bases para el comienzo comercialización y distribución de la nueva vacuna contra la tuberculosis<sup>36</sup>.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Quirós AB. Nuevas vacunas contra la tuberculosis obtenidas a partir de los avances inmunitarios y genéticos. *Bol Pediatr* 2006;46:7-22.
- (2) Behera D. Global Tuberculosis Control 2011, WHO Report 2011. *Indian J Med Res* 2012;136(4):681.
- (3) Rodríguez E, Villarrubia S, Díaz O, Hernández G, Tello O. Situación de la tuberculosis en España. Casos de tuberculosis declarados a la red nacional de vigilancia epidemiológica en 2010. *Boletín epidemiológico semanal* 2012;20(3):26-32.
- (4) Pérez Cruz H, García Silveira E, Pérez Cruz N, Samper Noa JA. Historia de la lucha antituberculosa. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2009;8(2):0-0.
- (5) Andersen P, Doherty TM. TB subunit vaccines putting the pieces together. *Microbes and infection/Institut Pasteur* 2005;7(5-6):911.
- (6) Soza G, Miranda C, Bernal E. Vacuna de Tuberculosis. *Manual de vacunas en Pediatría*. Madrid: AEP 2005:385-403.
- (7) Checkley AM, McShane H. Tuberculosis vaccines: progress and challenges. *Trends Pharmacol Sci* 2011;32(10):601-606.
- (8) Narayanan PR. Influence of sex, age & nontuberculous infection at intake on the efficacy of BCG: re-analysis of 15-year data from a double-blind randomized control trial in South India. *Indian J Med Res* 2006 Feb;123(2):119-124.
- (9) Brandt L, Cunha JF, Olsen AW, Chilima B, Hirsch P, Appelberg R, et al. Failure of the *Mycobacterium bovis* BCG vaccine: some species of environmental mycobacteria block multiplication of BCG and induction of protective immunity to tuberculosis. *Infect Immun* 2002;70(2):672-678.
- (10) Zodpey SP, Shrikhande SN. The geographic location (latitude) of studies evaluating protective effect of BCG vaccine and its efficacy/effectiveness against tuberculosis. *Indian J Public Health* 2007;51(4):205.
- (11) Martin C. The dream of a vaccine against tuberculosis; new vaccines improving or replacing BCG? *European Respiratory Journal* 2005;26(1):162-167.
- (12) Young DB. Building a better tuberculosis vaccine. *Nat Med* 2003;9(5):503-504.
- (13) Brennan MJ, Thole J. Tuberculosis vaccines: a strategic blueprint for the next decade. *Tuberculosis* 2012;92:S6-S13.
- (14) World Health Organization. WHO Report, Global Tuberculosis Control, 2012. Geneva: WHO 2012.
- (15) Wang J, Thorson L, Stokes RW, Santosuosso M, Huygen K, Zganiacz A, et al. Single mucosal, but not parenteral, immunization with recombinant adenoviral-based vaccine provides potent protection from pulmonary tuberculosis. *The Journal of Immunology* 2004;173(10):6357-6365.
- (16) van Dissel JT, Arend SM, Prins C, Bang P, Tingskov PN, Lingnau K, et al. Ag85B-ESAT-6 adjuvanted with IC31<sup>®</sup> promotes strong and long-lived< i> *Mycobacterium tuberculosis*</i> specific T cell responses in naïve human volunteers. *Vaccine* 2010;28(20):3571-3581.
- (17) Aagaard C, Hoang T, Dietrich J, Cardona PJ, Izzo A, Dolganov G, et al. A multistage tuberculosis vaccine that confers efficient protection before and after exposure. *Nat Med* 2011;17(2):189-194.
- (18) Nair S, Pandey AD, Mukhopadhyay S. The PPE18 Protein of *Mycobacterium tuberculosis* Inhibits NF- $\kappa$ B/rel-Mediated Proinflammatory Cytokine Production by Upregulating and Phosphorylating Suppressor of Cytokine Signaling 3 Protein. *The Journal of Immunology* 2011;186(9):5413-5424.
- (19) Von Eschen K, Morrison R, Braun M, Ofori-Anyinam O, De Kock E, Pavithran P, et al. The candidate tuberculosis vaccine Mt-b72F/AS02A: Tolerability and immunogenicity in humans. *Human vaccines* 2009;5(7):475-482.
- (20) Vilaplana C, Gil O, Cáceres N, Pinto S, Díaz J, Cardona PJ. Prophylactic effect of a therapeutic vaccine against TB based on fragments of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS one* 2011;6(5):e20404.
- (21) Cardona PJ. RUTI: a new chance to shorten the treatment of latent tuberculosis infection. *Tuberculosis* 2006;86(3):273-289.
- (22) Patel N, Deshpande M, Shah M. Effect of an immunomodulator containing *Mycobacterium w* on sputum conversion in pulmonary tuberculosis. *JOURNAL-INDIAN MEDICAL ASSOCIATION* 2002;100(3):191-193.
- (23) Vuola JM, Ristola MA, Cole B, Järviuoma A, Tvaroha S, Rönkkö T, et al. Immunogenicity of an inactivated mycobacterial vaccine for the prevention of HIV-associated tuberculosis: a randomized, controlled trial. *AIDS* 2003;17(16):2351-2355.
- (24) von Reyn C, Bakari M, Arbeit R, Lahey T, Ramadhani A, Egwaga S. New vaccines for the prevention of tuberculosis in human immunodeficiency virus infection. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 2012;16(6):718-723.
- (25) Cayabyab MJ, Macovei L, Campos-Neto A. Current and novel approaches to vaccine development against tuberculosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2012;2.



- (26) Kaufmann SHE, Hussey G, Lambert PH. New vaccines for tuberculosis. *The Lancet* 2010;375(9731):2110-2119.
- (27) Hoft DF, Blazevic A, Abate G, Hanekom WA, Kaplan G, Soler JH, et al. A new recombinant bacille Calmette-Guerin vaccine safely induces significantly enhanced tuberculosis-specific immunity in human volunteers. *J Infect Dis* 2008;198(10):1491-1501.
- (28) Kaufmann SHE, Gengenbacher M. Recombinant live vaccine candidates against tuberculosis. *Curr Opin Biotechnol* 2012.
- (29) Ottenhoff THM, Kaufmann SHE. Vaccines against tuberculosis: where are we and where do we need to go? *PLoS Pathogens* 2012;8(5):e1002607.
- (30) McShane H, Pathan AA, Sander CR, Keating SM, Gilbert SC, Huygen K, et al. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing antigen 85A boosts BCG-primed and naturally acquired antimycobacterial immunity in humans. *Nat Med* 2004;10(11):1240-1244.
- (31) Abel B, Tameris M, Mansoor N, Gelderbloem S, Hughes J, Abrahams D, et al. The novel tuberculosis vaccine, AERAS-402, induces robust and polyfunctional CD4 and CD8 T cells in adults. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010;181(12):1407-1417.
- (32) Bocanegra García V, Valencia Delgadillo J, Cruz Pulido W, Cantú Ramírez R, Rivera Sánchez G. De la genética a la genómica en el diseño de nuevas vacunas contra la tuberculosis. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 2011;29(8):609-614.
- (33) Britton WJ, Palendira U. Improving vaccines against tuberculosis. *Immunol Cell Biol* 2003;81(1):34-45.
- (34) Skeiky YAW, Alderson MR, Owendale PJ, Lobet Y, Dalemans W, Orme IM, et al. Protection of mice and guinea pigs against tuberculosis induced by immunization with a single Mycobacterium tuberculosis recombinant antigen, MTB41. *Vaccine* 2005;23(30):3937-3945.
- (35) Brennan MJ. Una nueva generación de vacunas antituberculosas. *Vacunas. Organización Panamericana de la Salud. Washington* 2004:193-198.
- (36) Barker LF, Brennan MJ, Rosenstein PK, Sadoff JC. Tuberculosis vaccine research: the impact of immunology. *Curr Opin Immunol* 2009;21(3):331.