

Vacinas para a Hanseníase

Jacinto Convit¹
Rafael Borges²
Marian Ulrich³
Nacarid Aranzazu⁴
María E. Pinardi⁵
Juan José Parra⁶

A hanseníase é uma doença conhecida desde a antigüidade, e foi durante séculos associada a um extraordinário estigma. Ainda hoje é considerada uma doença estigmatizante em alguns grupos sociais. Entretanto, durante o último século houve grandes avanços na pesquisa e tratamento dessa doença.

Muitos avanços contribuíram para o melhor conhecimento sobre a doença e possibilitaram o desenvolvimento de vacinas preventivas e terapêuticas contra a hanseníase. Dentre eles podemos citar a descoberta do agente etiológico da hanseníase, o *Mycobacterium leprae*, por Armauer Hansen; os progressos no desenvolvimento de vacinas desde o final do século 19, como a primeira vacina antimicobacteriana utilizando-se o BCG em 1921; estabelecimento de tatus como modelos de animais susceptíveis, podendo ser mantidos em cativeiro e que produziram uma quantidade enorme de *M. leprae* (KIRCHHEIMER, 1971; MEYERS, 1977); e ainda importantes aquisições sobre aspectos imunológicos da doença, assim como na biologia molecular do *M. leprae*.

A descoberta de drogas anti-hansênicas efetivas, como a dapsona, bacteriostática, durante a metade do século 20 e, subseqüentemente, outras tais como a rifampicina, bactericida, levaram ao desenvolvimento de regimes poliquimioterápicos para o tratamento da hanseníase na década de 80. Essas combinações reduziram drasticamente a possibilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana durante os longos períodos de tratamentos requeridos. Essa estratégia levou à suposição, com um otimismo cauteloso, de que a doença poderia ser controlada e possivelmente erradicada pela quimioterapia.

Situação Atual

Era lógico e razoável pensar que a poliquimioterapia (PQT) seria o foco mais efetivo, se não exclusivo nos esforços para controle da hanseníase. O mito de que a hanseníase é uma doença incurável foi amplamente destruído, uma vez que pacientes multibacilares se curavam após dois anos de tratamento. Uma endemia do passado, a treponemíase foi presumidamente erradicada após o uso da penicilina; essa patologia reemergiu com vigor em grande parte do mundo. Essas observações não diminuíram a esperança de que a hanseníase, uma doença completamente diferente, poderia ser eliminada pela poliquimioterapia. Durante os últimos 20 anos, foi observada uma queda radical da prevalência da hanseníase, baseada essencialmente na detecção precoce e o uso da PQT como medidas de controle. Isso nos deu esperança de que a doença poderia ser eliminada como um problema de saúde pública num período relativamente curto de tempo. Foi então, em maio de 1991, na 44ª Assembléia da Organização Mundial de Saúde (OMS), adotada a resolução de acelerar os esforços para eliminação da hanseníase como problema de saúde pública até o ano 2000. A eliminação foi definida como diminuição da prevalência para menos de 1 caso/10.000 habitantes.

Esse objetivo aumentou o interesse de órgãos da saúde pública e organizações não-governamentais (ONGs) de países endêmicos. Em um enorme esforço conjunto, os programas de detecção precoce e aplicação do PQT vêm sendo mantidos por mais de 20 anos. Os esforços dedicados pelos órgãos competentes de saúde pública e outras agências na implementação de detecção precoce e tratamento, campanhas de prevenção e educativas, assim como a distribuição de drogas a custo zero pela OMS contribuíram para o sucesso dessa empreitada.

Os resultados na detecção precoce e utilização do PQT são uma constante. Os avanços têm se revestido de enorme importância e o mundo deve agradecer aos esforços da OMS, assim como órgãos de saúde pública nacionais e ONGs por sua participação nesses esforços.

Depois de mais de duas décadas, talvez seja hora de

Recebido em 01/07/2003. Aceito em 25/07/2003

¹ MD, Instituto de Biomedicina, Apartado 4043, Caracas 1010A, Caracas, Venezuela

² MD, Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela

³ PhD, Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela

⁴ MD, Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela

⁵ BS, Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela

⁶ MD, Servicio de Dermatologia Sanitaria, Estado Cojedes, Venezuela

refletir sobre os resultados da quimioterapia, e se medidas de controle adicionais deveriam ser consideradas na consolidação dos avanços alcançados até agora.

No mundo todo, repetidamente, mostra-se que a redução drástica da prevalência, obtida através da detecção precoce e da PQT, não vem sendo acompanhada pela redução correspondente do número de casos novos detectados a cada ano (WHO, 1999). No período entre 1998 e 2000, mais de 700.000 casos novos foram notificados anualmente. Aumento significativo se comparado ao período compreendido entre 1994 e 1996, quando 560.000 casos novos foram diagnosticados todos os anos.

Dois exemplos de países onde a magnitude da hanseníase é muito diferente são Brasil e Venezuela. Na Venezuela, a prevalência tem permanecido relativamente estável desde 1997, com cerca de 0,6 casos/10.000 habitantes. A detecção de caso novos foi aproximadamente de 500 casos/ano até 1998. Durante os três últimos anos, essa taxa aumentou porque as medidas de detecção de casos ativos foram intensificadas, principalmente em áreas rurais distantes, onde a taxa de detecção permaneceu no patamar de 0,2 casos/10.000 habitantes desde o final da década de 70.

O Brasil, por outro lado, relatou a prevalência de 4,57 casos/10.000 habitantes no ano 2000. Essa foi uma queda significativa da taxa de 18 casos/10.000 habitantes relatada durante a segunda metade da década de 80. No entanto, a detecção de caso novos tem excedido 30.000 por ano desde 1990. Mais de 41.000 casos novos foram detectados no ano 2000, o que corresponde a uma taxa de detecção de 2,4 casos/10.000 habitantes; perto de 36.000 casos novos foram detectados em 2001, mostrando uma queda modesta (comunicação pessoal).

Já foram sugeridos dois possíveis modos de infecção pelo *M. leprae*. Historicamente, a transmissão foi considerada limitada a contato entre seres humanos. Mais recentemente, a detecção, nos Estados Unidos, de tatus naturalmente infectados com microorganismos indistinguíveis do *M. leprae* levou ao desenvolvimento desse modelo para produção de bacilos em larga escala para, entre outros objetivos sua utilização em estudos preliminares no desenvolvimento de vacinas. Essas infecções em animais, assim como o grande número de casos nos quais sabidamente não houve contato com outros casos da doença em humanos, sugerem outras possíveis formas de transmissão.

Estudos epidemiológicos na Venezuela sugerem a possibilidade de pelo menos dois modos de transmissão da hanseníase. O contato próximo entre indivíduos com a doença com longo período de latência e evolução lenta representa um modo. É relativamente freqüente a transmissão de pais para filhos, com predominância da forma virchoviana da doença. Quando essa forma de transmissão acontece em áreas distantes e isoladas, os casos virchovianos somente serão diagnosticados vários anos após o início da doença clínica. Nós consideramos

ser essa a forma clássica de transmissão familiar.

Estudos recentes sugerem outra forma de transmissão, a qual nós chamamos transmissão na comunidade. Grupos populacionais de pequeno e médio tamanhos apresentam um número desproporcional de casos com características especiais. A maioria dos casos é diagnosticada nas formas indeterminada e tuberculóide ou diferentes formas da hanseníase dimorfa, muitos com uma população significativa de bacilos. Há poucos casos de hanseníase virchoviana de evolução curta. Nessas áreas remotas, exames anuais da população revelam um número significativo de casos não detectados no ano anterior.

O resultado de estudos epidemiológicos realizados em dois de quatro estados centrais da Venezuela, onde a hanseníase foi eliminada como problema de saúde pública, revelaram comunidades hiperendêmicas. Estudos extensivos mostraram três comunidades com mais de 300 habitantes sem hanseníase, no entanto, detectaram 38 comunidades com 40 a 5600 habitantes onde a taxa de prevalência variou de 18,7 a 1294,3 casos/10.000 habitantes. Foram diagnosticados 441 casos do total de 20.450 pessoas examinadas, o que correspondeu a uma prevalência de 215,6 casos/10.000 habitantes. Desses casos, 75,68% eram paucibacilares. Novos exames em quatro comunidades, com a prevalência de >300 casos/10.000 habitantes, após dois anos, revelaram 20 casos novos entre 946 indivíduos, o que correspondeu a uma nova taxa de detecção de 211,4 casos/10.000 habitantes em dois anos; 80,95% desses pacientes eram paucibacilares (dados não publicados). Essas observações demonstram a importância de avaliar áreas remotas de difícil acesso, os quais podem constituir focos hiperendêmicos, com possível transmissão entre a comunidade. Exames realizados durante anos sucessivos continuaram a detectar casos novos em muitas das comunidades, apesar de a PQT ter sido imediatamente instituída em todos os novos casos diagnosticados. A PQT nesses novos casos não modificou o padrão de transmissão da doença nesses focos hiperendêmicos.

Os bacilos encontrados nesses pacientes também mostraram diferentes padrões de coloração. Em áreas de transmissão clássica, há predomínio de bacilos granuloses, degenerados. Em contraste, nas áreas de transmissão entre a comunidade, em populações menores de bacilos, há predomínio de bacilos típicos, com granulação pouco significativa.

Esses dois modos de transmissão ocorrem em diferentes ambientes. O primeiro é altamente restrito a contatos domiciliares, enquanto o segundo ocorre em ambientes mais extensos e complexos. Essas diferenças requerem alterações adequadas dos programas de controle.

Já que as diferenças morfológicas observadas são tão marcantes, pode haver diferenças ainda mais fundamentais nas cepas de *M. leprae* envolvidas em cada modo de transmissão. Mais especificamente, os fenômenos degenerativos observados em mais de 50% dos genes do *M. leprae* derivados de tatus

(COLE, 2001) podem ser similares aos fenômenos que ocorrem no *M. leprae* transmitido pela forma clássica, na qual os bacilos são claramente adaptados ao ambiente intracelular. Os bacilos envolvidos na transmissão dentro da comunidade devem conservar uma maior integridade genômica, uma vez que são provavelmente menos dependentes do ambiente intracelular e, portanto mais flexíveis para sobreviverem em diversas condições ambientais. Estudos comparativos dessas duas formas de bacilos são de interesse excepcional.

Sem dúvida, muitos casos não detectados ou casos subclínicos podem ser fontes de novas infecções que passariam despercebidas por muitos anos. Existe também a possibilidade de casos tratados pelo PQT poderem atuar como fonte de novas infecções. Em um único trabalho foram relatadas recidivas em 20% de pacientes multibacilares após tratamento pelo PQT (JAMET, 1995). Inquéritos epidemiológicos sobre a frequência de casos novos entre contatos de pacientes tratados, particularmente entre crianças nascidas após o término do tratamento, seriam muito interessantes.

O uso cuidadoso e ininterrupto do PQT por mais de 20 anos afetou profundamente a prevalência da hanseníase em todo o mundo, mas a detecção de casos novos não teve impacto semelhante. Isso sugere a necessidade de medidas de controle adicionais para a consolidação das metas atingidas (CONVIT, 2000). Uma vez que a interrupção da transmissão não parece ser a presente opção, estamos frente a necessidade real de desenvolver vacinas protetoras efetivas. Nesse momento, existem importantes evidências sobre o efeito de várias substâncias candidatas a vacinas. Seria apropriado dedicar parte dos esforços e recursos financeiros disponíveis para o estudo da hanseníase, apesar de limitados, ao desenvolvimento de vacinas para prevenir a infecção, mesmo enquanto a fonte de transmissão persistir. Esse ponto de vista é reforçado por modelos epidemiométricos da hanseníase, desenvolvido por vários investigadores (LECHAT, 1977), nos quais a introdução de vacinas preventivas mostra uma melhora significativa no controle da doença.

Considerações imunológicas para candidatas a vacina

Há evidências substanciais indicando que o perfil Th1 constitui um dos fatores associados com resistência à hanseníase. A hipersensibilidade tardia positiva é uma das manifestações da resposta Th1 associada a vários graus de resistência durante o curso natural da doença. O efeito adjuvante do BCG como estimulante da resposta Th1 é amplamente reconhecido. O BCG estimula a formação de granulomas e a síntese de citocinas pró-inflamatórias. A seqüência imunoestimulatória CPG foi inicialmente reconhecida no BCG e em outras micobactérias (TOKUNAGA, 1999). Até o presente, o BCG talvez seja o adjuvante mais aceito para estimular a resposta Th1 em seres humanos. Ele apresenta antígenos comuns com o *M. leprae*. Seu uso rotineiro

por via intradérmica parece particularmente interessante para indução da resposta Th1, em parte talvez pelo acesso a células apresentadoras de antígenos.

Há duas décadas, foi intensa a pesquisa em seres humanos sobre a resposta imunológica ao *M. leprae*. Atualmente, essas linhas de pesquisa não estão tão ativas, exceto em países como o Brasil e Índia, e alguns outros laboratórios isolados no mundo. Os relatos mais recentes do Comitê da OMS sobre a eliminação da hanseníase mostram que muitos grupos de investigação, anteriormente muito dedicados à pesquisa da hanseníase, agora se direcionam a outras áreas de investigação. Nós não sabemos com certeza quais são os antígenos protetores contra o *M. leprae*, ou se a proteção ocorre em algumas circunstâncias em alguns indivíduos, mas não em outros. Há evidências de que as respostas Th1 e Th2 não estejam claramente associadas à resistência e à susceptibilidade respectivamente. A situação atual reflete, em parte, a extraordinária ênfase dada à detecção precoce e à pronta introdução do esquema PQT como medidas de controle. Se aceitarmos a possibilidade de transmissão em estágio pré-clínico da infecção, durante períodos que podem se estender por anos e reconhecermos as limitações do conhecimento sobre os possíveis modos de transmissão, que podem nem mesmo envolver contato entre seres humanos, a limitação da PQT na eliminação da hanseníase como problema de saúde pública torna-se evidente. A erradicação definitiva não parece ser uma opção nessa estratégia. Essas incertezas têm ocorrido exatamente no momento em que ferramentas poderosas estão à disposição da ciência médica para desenvolvimento de vacinas novas e mais efetivas.

Devemos considerar as grandes diferenças encontradas entre a pesquisa na tuberculose e hanseníase hoje. Obviamente, a expansão em massa da tuberculose e a alta mortalidade associada a essa doença são fatores que orientaram os esforços colocados na pesquisa. No entanto, são impressionantes os esforços direcionados ao desenvolvimento de vacinas efetivas (BRENNAN, 2001; DOHERTY, 2002; YOUNG, 2002). Foram definidos objetivos claros, incluindo a avaliação de cepas atenuadas e cepas que expressem genes para síntese de citocinas imunoestimuladoras, além do desenvolvimento de vacinas de subunidades para administração, se necessário, junto com adjuvantes potentes e desenvolvimento de vacinas de DNA. Se considerarmos a evidência substancial da proteção obtida pelo BCG contra a hanseníase (CONVIT, 1956; CONVIT, 1993; PONNIGHAUS, 1992), é possível que uma dessas novas vacinas para a tuberculose ofereçam uma proteção cruzada ainda maior que o BCG contra o *M. leprae*. Essa possibilidade deveria ser checada em ensaios clínicos para a tuberculose. O genoma do *M. leprae* é conhecido e é claramente deficiente de material disponível para estudo (COLE, 2001). A lógica seria aplicar a tecnologia de micro-arrays e proteômica na tentativa de identificar porções de

interesse em particular. Estudo comparativo do genoma e proteomas de bacilos, representativo dos modos de transmissão clássico, entre comunidades ou ambiental, descritos anteriormente, são importantes objetos de pesquisa.

Estudos anteriores com vacinas preventivas

Quando falamos em vacina para a hanseníase, é importante nos reportarmos ao editorial publicado no *Leprosy Review* em 1996, "Vaccination against leprosy – the view from 1996" (FINE, 1996). O autor considera a existência de três ironias as quais ainda são válidas. Primeiro, foi afirmado várias vezes que não existe vacina para a hanseníase. Nada pode estar mais longe da verdade. Não somente existe, como ela é efetiva contra a hanseníase, admitindo-se variações de um país a outro, além disso, a BCG tem sido utilizada no presente em mais indivíduos que qualquer outra vacina no mundo.

A segunda ironia é que a BCG é usada contra a tuberculose, mas sua proteção contra a hanseníase tem sido mais consistente do que a proteção contra a doença para a qual ela foi desenvolvida.

Finalmente, os autores mencionam que o foco da investigação das vacinas para a hanseníase na Venezuela e na Malásia enfatizou a combinação de *M. leprae* inativado e BCG. Nesses estudos, demonstrou-se que uma alternativa simples e altamente protetora seria a repetição de doses da vacina BCG.

Devemos ressaltar o suporte dado pelo IMMLEP/OMS para o desenvolvimento de vacinas contra a hanseníase, assim como contribuições do ILEP, LEpra e outras ONGs. Esses esforços estimularam o trabalho colaborativo na Venezuela e na Malásia. A combinação *M. leprae*/BCG mostrou-se promissora como candidata a vacinas, baseadas em uma série de estudos que demonstraram alterações imunológicas favoráveis em pacientes que receberam a combinação em protocolos imunoterápicos (CONVIT, 1979; CONVIT, 1982). Naquele tempo, um suprimento adequado de *M. leprae* estava à disposição através da infecção experimental em tatus. O uso do BCG como segundo componente candidato a vacinas refletiu, na verdade, que o BCG compartilha antígenos do *M. leprae*, mas adicionalmente estimula uma resposta imunológica em pacientes virchovianos, os quais não respondem ao bacilo de Hansen. Além disso, o BCG induz a uma reação de Mitsuda positiva em comunicantes normais Mitsuda negativos (CONVIT, 1956), estimulando a formação de granuloma com células imunologicamente ativas e mostra outras características de atividade adjuvante.

Os resultados obtidos com os candidatos BCG/*M. leprae* não foram promissores na Venezuela (CONVIT, 1992), onde o problema no preparo da vacina foi detectado depois que o estudo clínico havia terminado (WHO, 1995), mas um estudo mais recente na Índia mostrou resultados promissores, com uma taxa de proteção de 65% (GUPTA, 1998).

Somos de opinião que as vacinas em potencial, desde

que estejam disponíveis, deveriam ser incorporadas aos programas de controle da hanseníase, uma vez que a atual estratégia não alterou significativamente a taxa de detecção de casos novos em muitas partes do mundo. Nos últimos dez anos, mais de cinco milhões de casos novos foram detectados. Isso é em parte atribuído à prevalência oculta de casos não diagnosticados previamente. Há poucas evidências de que essa situação irá mudar no futuro próximo, a menos que outros elementos sejam incorporados à estratégia de controle. Nos perguntamos se é eticamente válido continuar no presente caminho, quando já existem uma ou duas vacinas que podem causar impacto no aparecimento de casos novos.

Várias candidatas a vacinas demonstraram proteção contra a infecção pelo *M. leprae*. Naturalmente, a mais amplamente utilizada foi o BCG. A avaliação do BCG como vacina anti-hansênica começou na década de 40. Estudos posteriores, incluindo aqueles na Venezuela e Malásia (CONVIT, 1992; KARONGA, 1996; PONNIGHAUS, 1992) se basearam na avaliação do BCG usado como placebo nos estudos clínicos. Esses estudos mostraram que a vacinação repetida com o BCG, especialmente quando em indivíduos jovens, antes de serem infectados pelo *M. leprae*, obteve uma taxa de proteção superior a 70% em algumas áreas. Uma única dose de BCG foi associada a baixos níveis de proteção. A sensibilização ao BCG diminui com o tempo e a duração do efeito protetor não é claro. Atualmente, estudos com amostras pareadas (caso-controle), desenvolvidas na Venezuela e Malásia, apóiam firmemente a eficácia de doses repetidas do BCG para prevenção da hanseníase. Na Venezuela, a taxa de proteção de 56% foi atingida com três vacinações. Não foram observados casos de pacientes multibacilares entre indivíduos que receberam duas ou mais doses do BCG. Na Malásia, onde pacientes multibacilares são relativamente pouco freqüentes, foi observada maior proteção de pacientes que manifestaram a forma dimorfa da doença.

Estudos realizados na Venezuela, Malásia e Índia, usaram a combinação BCG/*M. leprae* inativado como vacina (CONVIT, 1992; GUPTA, 1998; KARONGA, 1996). Os três estudos incluíram o BCG sozinho em seu desenho experimental. O bacilo ICRC e o *Mycobacterium W*, candidatos à vacina e desenvolvidos no programa nacional da Índia foram também avaliados. Na Venezuela e Malásia, a combinação BCG/*M. leprae* não mostrou taxa de proteção significativamente superior ao BCG sozinho, o qual foi inesperadamente efetivo. Na Índia, ambos BCG/*M. leprae* combinados e bacilos ICRC induziram a uma proteção de cerca de 65%, considerada suficiente para sua utilização em programas de saúde pública. O BCG sozinho resultou em uma taxa de proteção de 34% na Índia.

Da mesma maneira, outras micobactérias cultiváveis, incluindo o *M. vaccae*, o *M. habana* e o *M. marinum* foram utilizados em ensaios clínicos imunoterapêuticos e imunoproláticos, mas esses resultados não serão revistos aqui.

As dificuldades técnicas associadas à obtenção do *M.*

leprae em quantidades suficientes para uso em vacinas parecem impedir claramente as considerações em ensaios futuros. Nós acreditamos fortemente que o uso repetido do BCG representa um candidato à vacina de primeira geração, em programas de controle da hanseníase, destinados à complementação das estratégias fundamentais de detecção e pronta utilização do PQT. O BCG tem sido utilizado em milhões de indivíduos com pouquíssimas contra-indicações. No caso de indivíduos com sinais clínicos da infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida seu uso não é recomendado, mas essa limitação é também relevante para muitas outras vacinas utilizadas no presente.

Nos recomendaríamos fervorosamente aos membros que participaram do 16º Congresso Internacional de Hanseníase considerar a resolução tomada pelos membros da Advisory Committee da OMS e pelos líderes de programas nacionais, de apoiar a avaliação do uso de doses repetidas do BCG como suporte a programas de controle da hanseníase. Além disso, nós recomendaríamos a avaliação do impacto das novas drogas contra a tuberculose na prevalência e detecção de casos novos de hanseníase em áreas onde as duas patologias coexistem.

Nós reconhecemos que o uso de doses repetidas do BCG no controle da hanseníase, se aplicado a comunicantes ou a comunidades inteiras onde os casos podem depender de outros modos de transmissão, não represente uma solução ideal para vacinação preventiva em longo prazo. Não

acreditamos também que a PQT sozinha possa atingir a eliminação da hanseníase como problema de saúde pública, e muito menos para eventual erradicação. Nós precisamos procurar novas ferramentas para consolidar os avanços feitos. A engenharia genética pode propiciar, com vacinas de subunidades, antígenos potentes do *M. leprae* com ação protetora inserido por engenharia genética em novos veículos com atividade adjuvante inerente (até mesmo o BCG), ou combinados com adjuvantes potentes.

A comunidade internacional de investigadores, clínicos, oficiais de saúde pública, e muitos outros indivíduos preocupados com a hanseníase e com outros problemas sociais e de saúde em países em desenvolvimento devem rever o progresso e objetivos em longo prazo de tempos em tempos. É imperativo avaliar os objetivos de programas de controle em longo prazo. Grupos e indivíduos responsáveis devem questionar se o atual programa de detecção precoce e tratamento apropriado como PQT usando drogas ainda mais potentes irão realmente reduzir as taxas de infecção pelo *M. leprae* a níveis nos quais a doença não será mais mantida na natureza.

Nós convidamos, aqueles que partilham das mesmas preocupações sobre a necessidade de medidas de controle adicionais, começando com o uso repetitivo do BCG e apoiando cada esforço feito no desenvolvimento de novas vacinas, a pensar sobre esses temas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BRENNAN M.J.; FRUTH U. Global forum on TB vaccine research and development. *World Health Organization*, June 7-8 2001, Geneva. *Tuberculosis*, Edinb, v.81, p.365-368, 2001.
- 2 COLE, S.T. and 43 others. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature*, v. 409, n. 6823, p.1007-1011, 2001.
- 3 CONVIT, J. Studies of leprosy in the German ethnic group of Colonia Tovar, Venezuela. V. The morbidity rates in BCG vaccinated and unvaccinated Groups during five years. *Int. J. Leprosy.*, v.24, p.269-274, 1956.
- 4 CONVIT, J. An investigation of leprosy in the German ethnic group of Colonia Tovar in Venezuela. IV. Clinical findings and variations in the Mantoux and Mitsuda reactions observed during five years after vaccination of Mitsuda-negative contacts. *Int. J. Leprosy.*, v.24, p.38-44, 1956.
- 5 CONVIT, J.; ULRICH, M. Immunotherapy and immunoprophylaxis of leprosy. *Indian J. Leprosy.*, v.72, p.21-32, 2000.
- 6 CONVIT, J.; ARANZAZU, N.; PINARDI, M.E.; ULRICH, M. Immunological changes observed in indeterminate and lepromatous leprosy patients and Mitsuda-negative contacts after the inoculation on a mixture of *Mycobacterium leprae* and BCG. *Clin. Exp. Immunol.*, v. 36, 214-220, 1979.
- 7 CONVIT, J.; ARANZAZU, N.; ULRICH, M.; PINARDI, M.E.; REYES, O.; ALVARADO, J. Immunotherapy with a mixture of *Mycobacterium leprae* and BCG in different forms of leprosy and in Mitsuda-negative contacts. *Int. J. Leprosy.*, v.50, 415-424, 1982.
- 8 CONVIT, J.; SAMPSON, C.; ZÚÑIGA, M.; SMITH, P.G.; PLATA, J.; SILVA, J.; MOLINA, J.; PINARDI, M.E.; BLOOM, B.R.; SALGADO, A. Immunoprophylactic trial with combined *Mycobacterium leprae*/BCG vaccine against leprosy: preliminary results. *Lancet*, v.339, n.8791, 446-450, 1992.
- 9 CONVIT, J.; SMITH, P.G.; ZÚÑIGA, M.; SAMPSON, C.; ULRICH, M.; PLATA, J.; SILVA, J.; MOLINA, J.; SALGADO, A. BCG vaccination protects against leprosy in Venezuela: A case-control study. *Int. J. Leprosy.*, v. 61, p. 185-191, 1993.
- 10 DOHERTY, T.M.; ANDERSON, P. Tuberculosis vaccine development. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, v.8, p.183-187, 2002.
- 11 FINE, P.E.; SMITH P.G. Vaccination against leprosy - the view from 1996. *Leprosy Rev.*, v. 67, p. 249-252, 1996.
- 12 GUPTE, M.D. and 13 others Comparative leprosy vaccine trial in south India. *Indian J. Leprosy.*, v. 70, p. 369-388, 1998.

- 13 WORLD HEALTH ORGANIZATION. Immunology of Mycobacterial Diseases (IMMYC) Steering Committee, Analysis of vaccines prepared from armadillo-derived *Mycobacterium leprae*. Results of an inter-laboratory study coordinated by the World Health Organization. *Int. J. Leprosy*, v. 63, p.,48-55, 1995.
- 14 JAMET, P.; JI, B. Relapse after long-term follow up of multibacillary patients treated by WHO multidrug regimen. Marchoux Chemotherapy Study Group. *Int. J. Leprosy.*, v. 63, p. 195-201, 1995.
- 15 KARONGA PREVENTION TRIAL GROUP Randomized controlled trial of single BCG, repeated BCG, or combined BCG and killed *Mycobacterium leprae*/BCG vaccine for prevention of leprosy and tuberculosis in Malawi. *Lancet*, v. 348, n. 9019, p. 17-24, 1996.
- 16 KIRCHHEIMER, W.F.; STORRS, E.E. Attempts to establish the armadillo (*Dasypus novemcinctus* Linn) as a model for the study of leprosy. I. Report of lepromatoid leprosy in an infected armadillo. *Int. J. Leprosy*. v. 39, p. 693-702, 1971.
- 17 LECHAT, M.F.; MISSON, C.B.; BOUCKAERT, A.; VELLUT, C. An epidemiometric model of leprosy a computer simulation of various control methods with increasing coverage. *Int. J. Leprosy.*, v. 45, p. 1-8, 1977.
- 18 MEYERS, W.; WALSH, G.P.; BROWN, H.L.; REES, R.J.W.; CONVIT, J. Naturally acquired leprosy-like disease in the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*): Reactions in leprosy patients to lepromins prepared from naturally infected armadillos. *J. Reticuloendoth. Soc.*, v. 22, p. 369-375, 1977.
- 19 PONNIGHAUS, J.M.; FINE, P.E.; STERNE, J.A.; WILSON, R.J.; MSOSA, E.; GRUER, P.J.; JENKINS, P.A.; LUCAS, S.B; LIOMBA, N.G.; BLISS, L. Efficacy of BCG vaccine against leprosy and tuberculosis in northern Malawi. *Lancet*, v. 339, n. 8794, p. 636-639, 1992.
- 20 TOKUNAGA, T.; YAMAMOTO, T.; YAMAMOTO S. How BCG led to the discovery of immunostimulatory DNA. *Japan J. Inf. Dis.*, v. 52, p. 1-11, 1992.
- 21 WHO Report of a special meeting of the leprosy elimination advisory group (LEAG) with potential partners. *WHO/LEP*, n. 99.1, p. 1-19, 1999.
- 22 YOUNG, S.; O'DONNELL, M.; LOCKHART, E.; BUDDLE, B.; SLOBBE, L.; LUO, Y.; DE LISLE, G. ; BUCHAN, G. Manipulation of immune responses to *Mycobacterium bovis* by vaccination with IL-2- and IL-18- secreting recombinant bacillus Calmette Guerin. *Immunol. Cell. Biol.*, v. 80, p., 209-215, 2002.