

Aspectos relevantes del uso de *Mycobacterium 'habana'* como candidato vacunal contra la tuberculosis

Iliana Valdés, Miguel Echemendía, Lilian Mederos, José A. Valdivia[‡], Ernesto Montoro*

¹ Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis y Micobacterias. Centro Colaborador OPS/OMS. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia de Mediodía km 6 1/2. La Lisa. La Habana, Cuba.

email: emontoro@ipk.edu.cu

La eficacia protectora de la actual vacuna (BCG) contra la tuberculosis, para contrarrestar las formas pulmonares de esta enfermedad y su reactivación, resulta variable o poco eficiente, lo cual impone la búsqueda urgente de nuevas alternativas profilácticas contra esta enfermedad. Basados en las ventajas inmunogénicas que ofrece el uso de vacunas vivas, se han encaminado diferentes estrategias de este tipo empleando mutantes auxotróficos de *Mycobacterium tuberculosis*, BCG recombinante o micobacterias no tuberculosas. Existen evidencias experimentales acerca de la protección conferida tras la vacunación con cepas vivas, inactivadas o fracciones proteicas de *Mycobacterium 'habana'* TMC-5135 contra la infección por *Mycobacterium tuberculosis*. Esta respuesta protectora parece ir aparejada de escasos signos de virulencia en los modelos animales ensayados, lo cual coloca a *M. 'habana'* dentro de los posibles candidatos vacunales contra la tuberculosis al ajustarse a la condición que impone una vacuna clásica de reproducir la infección y los eventos inmunes que le suceden lo más fielmente posible a como ocurren de manera natural, sin causar extensos daños en el receptor.

Palabras clave: *Mycobacterium 'habana'*, vacuna, tuberculosis.

Introducción

A cinco décadas de la implantación de los programas de control contra la tuberculosis (TB), empleando drogas potencialmente eficaces, ha sido imposible reducir la prevalencia internacional de la enfermedad por *Mycobacterium tuberculosis*. Factores como la pobreza, la superpoblación, las guerras y la destrucción de las infraestructuras nacionales han contribuido a la diseminación de esta enfermedad, la cual cobra 50.000 vidas semanales y aproximadamente un tercio de la población mundial está infectada asintóticamente con esta bacteria (1-3).

En la actualidad, el rápido incremento de la circulación de cepas multidrogorresistentes (MDR) y extremadamente resistentes (XDR) hace que este fenómeno se torne más peligroso y potencialmente incurable (4).

La vacuna viva atenuada Bacillus Calmette-Guérin (BCG) se desarrolló hace más de 80 años y en la actualidad es la única disponible contra la TB (4). Su uso sistemático evita la pérdida de miles de vidas cada año; sin embargo, sus beneficios se han visto restringidos a la prevención de las formas graves de TB de la infancia, incluyendo la miliar, meníngea y extrapulmonar (5).

El bajo costo y amplio historial de seguridad constituyen ventajas irrefutables de esta vacuna, aunque, desafortunadamente, en adultos la eficacia protectora de la BCG contra las formas pulmonares de TB y la reactivación

puede resultar variable o totalmente ineficiente (6). Consecuentemente esta problemática impone nuevos retos a la búsqueda urgente de alternativas profilácticas eficaces contra esta enfermedad, con el objetivo de reducir su incidencia en las áreas endémicas (7).

A pesar del rechazo inicial mostrado hacia el desarrollo de vacunas vivas contra la TB, estas constituyen los más potentes estimuladores de una inmunidad protectora. Esta afirmación se basa en la ventaja que supone la expresión de un gran número de antígenos micobacterianos y la consecuente habilidad para estimular una mejor combinación de subpoblaciones de células T (8, 9).

En la actualidad se han explorado diversas alternativas empleando micobacterias vivas e inactivadas o sus principales antígenos, como potenciales candidatos vacunales. Las vacunas vivas incluyen micobacterias menos virulentas, atenuadas de forma natural o mutantes auxotróficos de *M. tuberculosis*. Por otra parte, algunas micobacterias no tuberculosas como *M. vaccae* y *M. microtti* se han sugerido como candidatos vacunales, sin embargo los experimentos en animales demuestran variabilidad en su eficacia protectora (7).

Mycobacterium 'habana' fue aislado por primera vez por Valdivia y cols. en 1971, a partir de esputos provenientes de pacientes con enfermedad pulmonar indistinguible de una TB (10, 11). Debido a su gran similitud bioquímica y serológica con *M. simiae* (serotipo I) el Grupo Internacional de Taxonomía

* Doctor en Medicina. Especialista de Segundo Grado en Microbiología. Máster en Bacteriología-Micología. Doctor en Ciencias Médicas. Investigador Titular. Profesor Auxiliar.

de Micobacterias lo ubicó como integrante de esta especie (12, 13). No obstante, existen diferencias antigénicas e inmunogénicas que permanecen en la literatura sin explicación y se ha mantenido la denominación *M. 'habana'* para aquellas cepas aisladas originalmente en Cuba (14).

Existen evidencias de que la vacunación experimental con *M. 'habana'* TMC-5135 confiere protección contra la infección por *M. tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium ulcerans* y *Leishmania donovani* (15-19). En el presente trabajo se exponen los aspectos más significativos relacionados con la virulencia, inmunogenicidad y poder protector de *M. 'habana'* contra la tuberculosis.

Potencial inmunogénico de *M. 'habana'* en la infección tuberculosa experimental

Los candidatos vacunales clásicos necesitan simular la infección natural lo más cercanamente posible, sin causar la enfermedad, y a la vez reproducir los pasos y procesos que se suceden en el establecimiento de la inmunidad natural. Estudios epidemiológicos y experimentales indican que la infección previa con TB confiere protección relativa contra una enfermedad por reinfección (20). Esto sugiere que las vacunas vivas atenuadas que no causen enfermedad pueden generar protección, por lo que están siendo ampliamente probadas en la inducción de una memoria duradera contra los patógenos intracelulares (20).

A menos de una década del reporte inicial de *M. 'habana'*, un grupo de investigadores de la India estudió el potencial inmunogénico de la cepa TMC-5135 en comparación con el inducido tras la vacunación subcutánea con 19 cepas de diferentes especies de micobacterias, empleando modelos experimentales murinos (21). Curiosamente, Gupta y cols. demuestran la habilidad de *M. 'habana'* de proteger a los ratones vacunados, luego del reto con *M. tuberculosis* H37Rv, y detectan valores de sobrevida superiores en un 20% a los mostrados tras la vacunación con BCG, en las mismas condiciones experimentales (21).

Contrario a la similitud serológica demostrada por Meissner y Schroeder entre *M. 'habana'* y *M. simiae* serotipo I (12), los experimentos de inmunogenicidad evidencian que esta última no confiere protección experimental frente a la infección tuberculosa (21), por lo que probablemente *M. 'habana'* presenta características antigénicas distintivas que expliquen estos comportamientos.

En este sentido, Mederos y cols. reportaron diferencias en la composición de las fracciones de glicopeptidolípidos (14, 22) y ácidos micólicos (23), entre ambas especies micobacterianas, las que pudieran estar involucradas con sus diferencias inmunogénicas.

Esta hipótesis se sustenta en la evidencia de que cepas de *M. tuberculosis* con mutaciones a nivel de los ácidos micólicos

difieren de las cepas salvajes en sus propiedades patogénicas e inmunogénicas (24, 25). Recientemente, Mederos y cols. mostraron la existencia de diferencias estructurales en el 'factor cuerda' entre cepas de *M. 'habana'* y *M. simiae*. Sin embargo, estas no parecen ser relevantes en la inducción de la producción de TNF- α en líneas celulares de macrófagos (26).

La única medida válida de la habilidad de una vacuna de inducir protección es el reto de animales vacunados y controles con el agente etiológico de la enfermedad, para la cual se está vacunando, y medir el resultado final de esta infección. En los ensayos con vacunas antituberculosas la eficacia protectora incluye una sobrevida prolongada, reducción en la apariencia clínica de la enfermedad y en el daño histológico, tanto a nivel macroscópico como microscópico, disminución de la carga bacilar y restricción anatómica del bacilo al sitio de entrada en los animales vacunados (27).

El efecto protector de la vacunación con cepas vivas de *M. 'habana'* se ha evaluado empleando múltiples vías de inoculación y diferentes modelos experimentales. Raj y cols. demostraron la capacidad restrictiva de la vacunación intravenosa con la cepa TMC-5135 en la multiplicación de *M. tuberculosis*, tanto en animales inmunocompetentes como inmunodeprimidos, donde obtienen valores cien veces menores de carga bacilar en los ratones inmunizados, en comparación con el grupo control no vacunado.

Este hallazgo se traduce en un daño pulmonar limitado a una pequeña proporción del parénquima, con ausencia de áreas necróticas y un incremento de linfocitos con relación a lo observado en ratones no vacunados. Cuando estos resultados se expresan en términos de mortalidad, la vacunación con *M. 'habana'* evidencia claramente el aumento en la sobrevida, hasta un 50%, indicando protección frente a la infección experimental con *M. tuberculosis* (28).

A pesar de la respuesta protectora encontrada en estos experimentos la interpretación de sus resultados se ve limitada por la utilización de la vía endovenosa durante el reto con *M. tuberculosis* H37Rv. Esta vía difiere de la empleada de manera natural por esta micobacteria, para provocar la infección en un hospedero susceptible. La inoculación endovenosa pudiera contribuir a la rápida distribución del agente a través de los diferentes componentes del sistema mononuclear fagocítico, contribuyendo a la eliminación de una gran cantidad de los bacilos con los que se pone en contacto.

En este sentido, el grupo de trabajo del Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias del IPK, llevó a cabo estudios de protección empleando la vacunación subcutánea con diferentes cepas vivas de *M. 'habana'* en ratones Balb/c. En esta investigación el reto se llevó a cabo empleando *M. tuberculosis* H37Rv y

una cepa de *M. tuberculosis* perteneciente al genotipo Beijing, la cual se ha reconocido como hipervirulenta en el modelo experimental empleado (29). El reto se realizó empleando la vía intratraqueal, lo cual supone ventajas en cuanto a la reproducción de un modelo lo más cercano posible a la vía de infección natural empleada por esta micobacteria.

Los hallazgos más impresionantes se obtuvieron tras el reto con la cepa del genotipo Beijing, que demostró que la vacunación con *M. 'habana'* no previene de la infección tuberculosa, sin embargo protege contra la progresión y diseminación de la enfermedad, resultando significativamente mayor que la protección conferida por la vacunación con BCG (30), datos no reportados con anterioridad en la literatura. Analizando estos resultados, parece evidente que la respuesta inmunológica inducida a través de la vacunación con cepas vivas de *M. 'habana'* es protectora frente a la infección tuberculosa, al menos en modelos animales.

Las evidencias experimentales sugieren una fuerte correlación entre la multiplicación micobacteriana en el hospedero y la reactividad de células T contra los antígenos secretados (3). Estos últimos se podrían comportar como estimuladores tempranos de la respuesta inmune protectora contra los patógenos. Esta hipótesis se basa en el hecho de que la vacunación con bacilos vivos induce altos niveles de resistencia antituberculosa en experimentos con animales, en comparación con las vacunas de células inactivadas o de sus componentes, incluso cuando estos son presentados en adyuvantes apropiados (3).

Aunque los correlatos de protección en tuberculosis aún esperan por una definición, existe un consenso general con respecto a que la infección micobacteriana se caracteriza por el reclutamiento de células T CD4⁺ productoras de citoquinas tipo I, en particular IFN- γ (31, 32). Valdés y cols. tras inocular cepas vivas de *M. 'habana'*, empleando un modelo de tuberculosis pulmonar progresiva en ratones Balb/c, demostraron la capacidad de las mismas de inducir la expresión de altos niveles de factores protectores, entre los que se encuentran el IFN- γ , TNF- α e iNOS y una baja expresión de IL-4 (30). Estos hallazgos, unidos a la formación temprana de granulomas en respuesta a la infección por *M. tuberculosis* H37Rv sugieren que la vacunación con *M. 'habana'* es inductora de una fuerte respuesta inmune celular (30, 33).

Por otro lado, existen múltiples reportes que tratan de dilucidar el papel inmunogénico de algunos de sus principales antígenos en virtud de explicar el grado de protección conferida por esta vacunación (34-36). Jyothi y cols. reportaron la capacidad de *M. 'habana'* de liberar proteínas extracelulares inductoras de una fuerte proliferación de células T y un incremento en la producción de citoquinas pertenecientes al perfil Th-1. Consecuentemente, estas ejercen un efecto regulador positivo en la actividad de las enzimas lisosomales (β -glucuronidasa y fosfatasa ácida), así

como en la producción de NO y H₂O₂, siendo estos los posibles mecanismos de acción de este tipo de vacunación (34).

Las proteínas de choque térmico (HSP) se han considerado ampliamente como candidatos vacunales en virtud de su fuerte capacidad inmunogénica y su distribución cosmopolita.

El antígeno HSP65 se encuentra bien caracterizado en las micobacterias, reconociéndose en el mismo la presencia de epitopes para células T y B. Singh y cols. demostraron el alto grado de similitud existente para este antígeno, entre *M. tuberculosis*, *M. leprae* y *M. 'habana'* (35).

Singh y cols. estudiaron la eficacia protectora del antígeno HSP65 de *M. habana* en la TB experimental. Los ratones vacunados con este antígeno, luego del reto con *M. tuberculosis*, muestran menores conteos de bacilos ácido-alcohol resistentes en el tejido pulmonar y esplénico, así como una media de supervivencia entre 7 y 8 veces mayor, en comparación con el grupo control no vacunado (35).

Por su parte, Chaturvedi y cols. realizaron el aislamiento y localización subcelular de los antígenos que tributan de manera significativa a la eficacia protectora de *M. 'habana'*, donde se encontró que una gran parte de ellos se localizan en la fracción perteneciente a la membrana celular, preferencialmente en el compartimento periférico.

Este fenómeno pudiera ser el resultado de un aumento en la inmunidad total del organismo que controla la infección, ya sea, desde sus primeros momentos o a través de la destrucción del patógeno, seguido por una rápida eliminación de los bacilos muertos. Un hallazgo interesante de este estudio consistió en que se demostró una enorme similitud entre los perfiles de separación de las proteínas estudiadas de *M. 'habana'* y *M. tuberculosis*, lo cual evidencia nuevamente la relación antigénica entre ambas micobacterias (36).

Interesantemente, el reconocimiento de proteínas secretadas por *M. 'habana'* por suero de pacientes con tuberculosis pulmonar activa, a través de la técnica de Western blot, revela la presencia de algunos antígenos inmunorreactivos, particularmente el Ag85. Este constituye uno de los antígenos de secreción temprana más importantes en *M. tuberculosis*, del cual se ha demostrado su alta capacidad inmunogénica y protectora (37-39).

Este hallazgo se corrobora por Valdés y cols., tras la observación de una elevada producción de IFN- γ , luego de la estimulación con Ag85 de suspensiones celulares de ganglios linfáticos, bazo y pulmones provenientes de animales vacunados con cepas vivas de *M. 'habana'*.

Adicionalmente, en este estudio se demostró que la estimulación de estas suspensiones con antígenos provenientes del filtrado de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv

induce altos niveles de esta citoquina, lo que refuerza la hipótesis de la relación antigénica entre *M. 'habana'* y *M. tuberculosis* (30).

Seguridad de la vacunación experimental con *M. 'habana'*

La seguridad es una de las más grandes preocupaciones y el mayor reto en el desarrollo de vacunas vivas en virtud de proveer de suficiente garantía para su posterior aplicación en humanos. Tradicionalmente, los estudios de sobrevida emplean la evaluación del candidato en diferentes modelos experimentales que van desde cultivos de células animales, susceptibles o resistentes a la enfermedad, hasta el uso de animales inmunodeficientes. Entre los métodos que permiten establecer la seguridad de los candidatos vacunales se encuentran el conteo de la población bacteriana en pulmones y bazo, la sobrevida de los animales tras la infección con dosis letales de las cepas empleadas, así como la evaluación histopatológica de los principales órganos dianas (20).

Experimentalmente se ha observado un amplio espectro de virulencia al inocular ratones por vía intravenosa con diferentes especies de micobacterias. Collins y cols. demostraron que al infectar ratones con *M. 'habana'*, la carga bacilar pulmonar disminuye lentamente con el tiempo, contrariamente a la persistencia observada cuando se emplea *M. simiae*. Por otra parte, la infección con *M. 'habana'* muestra signos menores de diseminación hacia otros órganos (principalmente a hígado o bazo), con respecto a la infección con BCG (40).

Con el objetivo de evaluar la seguridad de la vacunación intravenosa con *M. 'habana'*, Raj y cols. comprobaron la diseminación de las micobacterias hacia los principales órganos de los ratones vacunados. Los experimentos demuestran una sobrevida total con reducción paulatina de la carga bacilar, por lo que se logra una esterilización casi completa de todos los tejidos, evidenciado a partir de la tinción específica para estos bacilos, así como el recobrado de solo pocas unidades formadoras de colonias (28).

Recientemente, Valdés y cols. confirmaron la atenuación natural de cepas de *M. 'habana'*. Estas permitieron una sobrevida total, luego de cuatro meses de infección, al ser inoculadas intratraquealmente en ratones Balb/c; así como una carga bacilar y daños histológicos significativamente menores a los encontrados tras la infección experimental con *M. tuberculosis* H37Rv. La confirmación de la atenuación mostrada en estos experimentos se realizó comparando la sobrevida de ratones inmunodeficientes tras la infección con diferentes cepas de *M. 'habana'*. Los resultados no muestran diferencias significativas con los resultados obtenidos tras la infección con BCG, lo cual apoya la hipótesis referente a que *M. 'habana'* es una micobacteria atenuada de forma natural, cuya administración resulta segura en modelos experimentales (30).

Conclusiones

Luego del consenso del Grupo de Expertos en Vacunas contra la Tuberculosis, en 2005, existe un optimismo renovado alrededor del desarrollo y uso de vacunas vivas atenuadas, como candidatos confiables a pasar a estudios clínicos Fase I en los próximos años. La viabilidad, persistencia y alta inmunogenicidad son atributos requeridos para la generación de una vacuna exitosa contra la TB, basada en el uso de bacilos vivos, en virtud de conferir un nivel de protección adecuado (20, 41). Los resultados demostrados a lo largo de los años de experimentación con *M. 'habana'* como candidato vacunal contra la TB, amerita la realización de nuevas investigaciones, considerando la promisoriosa posibilidad de emplear esta micobacteria como receptora de genes micobacterianos que codifiquen para proteínas altamente inmunogénicas, produciendo una cepa recombinante como nuevo candidato vacunal contra la TB.

Referencias

1. Ginsberg AM. What's new in tuberculosis vaccines? Bull World Health Organization 2002;80:483-8.
2. McMurray DN. Recent progress in the development and testing of vaccines against human tuberculosis. Int J Parasitol 2003;33:547-54.
3. Laxman S, Meena, Rajni I. Survival mechanisms of pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. FEBS 2010;277:2416-27.
4. Svenson S, Källenius G, Pawlowski A, Hamasur B. Towards new tuberculosis vaccines. Human Vaccines 2010;6:309-17.
5. Loch C. From Genomic Characterization to Improved BCG. En: Nor NM, Acosta A, Sarmiento ME. The Art & Science of Tuberculosis Vaccine Development. Malaysia: Oxford Fajar Sdn. Bhd; 2010. p. 211-21.
6. Hernández-Pando R. Nuevas vacunas contra la TB. Rev Salud Pública de México 2007;49(Suppl. 1):211-7.
7. Singhal N, Bisht D, Joshi B. Immunoprophylaxis of tuberculosis: An update of emerging trends. Arch Immunol Ther Exp 2010;58:97-106.
8. Kaufmann SHE, McMichael AJ. Annulling a dangerous liaison: vaccination strategies against AIDS and tuberculosis. Nature Medicine 2005;11(4S):S33-44. Disponible en: <http://www.nature.com/nm/journal/v11/n4s/full/nm1221.html> 11:33-44.
9. Baumann S, Eddine AN, Kaufmann SHE. Progress in tuberculosis vaccine development. Curr Opin Immunol 2006;18:438-48.
10. Valdivia JA, Suárez R, Echemendía M. *Mycobacterium 'habana'*, probable nueva especie dentro de las especies no clasificadas. Bol Hig Epidemiol 1971;9:65-73.
11. Valdivia JA. *Mycobacterium 'habana'*: Clinical and epidemiological significance. Ann Soc Belg Med Trop 1973;53:263-6.
12. Meissner G, Schröder KH. Relationship between *Mycobacterium simiae* and *Mycobacterium 'habana'*. Am Rev Respir Dis 1975;111:196-200.

13. Weiszfeiler JG, Karczag E. Synonymy of *Mycobacterium simiae* Karasseva *y cols.*1965 and *Mycobacterium 'habana'* Valdivia *y cols.*1971. *Int J Syst Bacteriol* 1976;26:474-7.
14. Mederos LM, Valdivia JA, Sampere MA, Valero-Guillén PL. Analysis of lipids reveals differences between *Mycobacterium 'habana'* and *Mycobacterium simiae*. *Microbiology* 1998;144:1181-8.
15. Gupta HP, Singh NB, Mathur IS, Gupta SK. *Mycobacterium 'habana'*, a new immunogenic strain in experimental tuberculosis of mice. *Indian J Exp Biol* 1979;17:1190-3.
16. Raj PP, Srivastava S, Jain SK, Srivastava BS, Srivastava R. Protection by live *Mycobacterium 'habana'* vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv challenge in mice. *Indian J Med Res* 2003;117:139-45.
17. Singh NB, Celia TA, Lave RE, Rees RJW, Colston DMJ. Vaccination of mice against *Mycobacterium leprae* infection. *Infect Immun* 1989;57:653-5.
18. Singh NB, Mathur IS, Gupta HP, Srivastava A. A novel immunogenic strain *Mycobacterium 'habana'* against *M. ulcerans* (Buruli ulcer) infection in mice. *Curr Sci* 1981;50:994-6.
19. Anuradha A, Zehra K, Katiyar JC, Gupta HP, Singh NB. Vaccination of hamster with *Mycobacterium 'habana'* against *Leishmania donovani* infection. *Curr Scien* 1995;69:90-3.
20. Martín C, Gonzalo-Asensio J. Attenuated Vaccines. En: Nor NM, Acosta A, Sarmiento ME. *The Art & Science of Tuberculosis Vaccine Development*. 1ra ed. Malaysia: Oxford Fajar Sdn. Bhd. (008974-T); 2010. p. 225-43.
21. Gupta HP, Singh NB, Mathur IS, Gupta SK. *Mycobacterium 'habana'*, a new immunogenic strain in experimental tuberculosis of mice. *Indian J Exp Biol* 1979;17:1190-3.
22. Mederos L, Valdivia JA, Valero-Guillén PL. New variants of polar glycopeptidolipids detected in *Mycobacterium simiae*, including 'habana' strains, as evidenced by electrospray ionization-ion trap-mass spectrometry. *J Appl Microbiol* 2008;105:602-14.
23. Mederos L, Valdivia JA, Valero-Guillén PL. Analysis of the structure of mycolic acids of *Mycobacterium simiae* reveals a particular composition of á-mycolates in strain 'habana', considered as immunogenic in tuberculosis and leprosy. *Microbiology* 2007;153:4159-65.
24. Rao V, Fujiwara N, Porcelli SA, Glickman MS. *Mycobacterium tuberculosis* control host innate immune activation through cyclopropane modification of a glycolipid effector molecule. *J Exp Med* 2005;201:535-43.
25. Rao V, Gao F, Chen B, Jacobs WR, Glickman MS. Trans-cyclopropanation of mycolic acids on trehalose dimycolate suppresses *Mycobacterium tuberculosis*-induced inflammation and virulence. *J Clin Invest* 2006;116:1660-7.
26. Mederos LM, Montoro EH, Valero-Guillén PL. Structural studies of cord factors from *Mycobacterium simiae* related to the capacity for tumour necrosis factor alpha (á-TNF) induction. *Microbiology* 2010;156:3744-53.
27. McMurray DN. A coordinated strategy for evaluating new vaccines for human and animal tuberculosis. *Tuberculosis* 2001;81:141-6.
28. Raj PP, Srivastava S, Jain SK, Srivastava BS, Srivastava R. Protection by live *Mycobacterium 'habana'* vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv challenge in mice. *Indian J Med Res* 2003;117:139-45.
29. López B, Aguilar LD, Orozco H, Burger M, Espitia C, Ritacco V, et al. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes. *Clin Exp Immunol* 2003;133:30-7.
30. Valdés I, Montoro E, Aguilar D, Orozco H, Hernández-Pando R. *Mycobacterium 'habana'*: Virulence, Immunogenicity and protection against experimental tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2010;14(Suppl. 2):243.
31. Ottenhoff TH, de Boer T, Verhagen CE, Verreck FA, van Dissel JT. Human deficiencies in type I cytokine receptors reveal the essential role of type I cytokines in immunity to intracellular bacteria. *Microbes Infect* 2000;2:1559-66.
32. Van Ham SM, Samson JN, Bos NA, Damoiseaux J, Laman JD, Wauben MHM. Vaccination immunology: Prevention and beyond. *Immunol Lett* 2009;122:101-3.
33. Hernández-Pando R, Orozco EH, Sampieri A, Pavón L, Velasquillo C, Larriva SJ, et al. Correlation between the kinetics of Th1/Th2 cells and the pathology in a murine model of experimental pulmonary tuberculosis. *Immunol* 1996;89:26-33.
34. Jyothi MD, Garg SK, Singh NB. Mechanisms involved in protective immune response generated by secretory proteins of *Mycobacterium 'habana'* against experimental tuberculosis. *Scand J Immunol* 2000; 51:502-10.
35. Singh NB, Srivastava K, Malaviya B, Kandpal H, Srivastava A, Gupta HP. The 65 kDa protein of *Mycobacterium 'habana'* and its putative role in immunity against experimental tuberculosis. *Immunol Cell Biol* 1995;73:372-6.
36. Chaturvedi V, Srivastava A, Gupta HP, Srivastava BS. Protective antigens of *Mycobacterium 'habana'* are distributed between peripheral and integral compartments of plasma membrane: a study in experimental tuberculosis of mouse. *Vaccine* 1999;17:2882-7.
37. Horwitz MAB, Lee WE, Dillon BJ, Harth G. Protective immunity against tuberculosis induced by vaccination with major extracellular proteins of *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1530-4.
38. Haslov K, Andersen A, Nagai S, Gottschau A, Sorensen T, Andersen P. Guinea pig cellular immune response to protein secreted by *Mycobacterium tuberculosis*: association between levels of antibodies and *Mycobacterium* antigens. *Infect Immun* 1995;63:804-10.
39. Chaturvedi V, Gupta HP. Evaluation of integral membrane antigens of *Mycobacterium 'habana'* for serodiagnosis of extrapulmonary tuberculosis: association between levels of antibodies and *Mycobacterium tuberculosis* antigens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001;33:1-7.

40. Collins FM, Watson SR. Immune response to atypical mycobacterial lung infections. *Reviews Infect Dis* 1981;3:981-9.
41. Walker KB, Bar P, Brennan MJ, Ho MM, Eskola J, Thiry G, et al. The second Geneva Consensus: Recommendations for novel live TB vaccines. *Vaccine* 2010;28:2259-70

Relevant aspects of the use of *Mycobacterium 'habana'* as Tuberculosis vaccinal candidate

Abstract

The protective efficacy of current Tuberculosis vaccine (BCG) against pulmonary tuberculosis and reactivation is variable and inefficient. This is the reason of the urgent search of new prophylactic alternatives for disease control. Different strategies using *Mycobacterium tuberculosis* auxotrophic mutants, recombinant BCG or non-tuberculous micobacteria are carried out taking advantage of the use of live vaccines. Experimental evidences demonstrate protection conferred by the vaccination with live, inactivated or protein fraction of *Mycobacterium 'habana'* TMC-5135. Protection seems to be related to few virulence signs in animal models. Experimental results place *M. 'habana'* among vaccine candidates against tuberculosis meeting the condition of a "classic" vaccine to mimic natural infection as close as possible inducing strong immune protective response without causing extensive disease.

Keywords: *Mycobacterium 'habana'*, vaccine, tuberculosis.

Recibido: Abril de 2011

Aceptado: Mayo de 2011