Desenvolvimento das vacinas contra leishmaniose

Development of vaccines against leishmaniasis

Igor Mendes Lima*
João Eduardo Miranda Lima*
Divane Hannah Nóbrega de Melo*
Ana Beatriz Campos de Souza*
Milena Nunes Alves de Sousa**

RESUMO

A Leshmaniose é uma doença tropical e subtropical causada por protozoários e que vem apresentando grande expansão geográfica no território brasileiro, para a qual medicamentos não apresentam tanta eficácia, daí a importância do desenvolvimento de vacinas como melhor medida preventiva. Este estudo foi realizado com o objetivo de retratar o andamento de pesquisas que indicam alternativas eficazes e profiláticas contra a Leishmaniose. A partir do método de Revisão Integrativa, realizou-se uma busca online nos bancos de dados da Biblioteca Virtual em Saúde e Medical Publisher. De 328 artigos potenciais, 20 foram selecionados a partir dos critérios de inclusão e exclusão. Nos estudos, as células TCD4/TDC8 foram úteis na exposição dos antígenos KMP-11, HASPB e escherissomos. Também foram desenvolvidas técnicas de DNA recombinante e genes sintéticos, como o KH, para a inibição do protozoário. Nesse aspecto, concluiu-se a descoberta de antígenos e códigos genéticos que apresentaram grande potencialidade para a criação de uma vacina no futuro.

Palavras-chave: Vacinas contra leishmaniose. Seres humanos. Prevenção & Controle.

ABSTRACT

Leshmaniosis is a tropical and subtropical disease caused by protozoa and has been showing great geographic expansion in the Brazilian territory, for which drugs are not as effective, hence the importance of developing vaccines as the best preventive measure. This study was carried out with the aim of portraying the progress of researches that indicate effective and prophylactic alternatives against Leishmaniasis. Based on the method of Integrative Review, an online search was performed on the databases of the Virtual Health Library and Medical Publisher. Of 328 potential articles, 20 were selected from the inclusion and exclusion criteria. In the studies, TCD4 / TDC8 cells were useful in exposing the KMP-11, HASPB and escherichomes antigens. Recombinant DNA techniques and synthetic genes, such as KH, for protozoan inhibition have also been developed. In this aspect, the discovery of antigens and genetic codes that showed great potential for the creation of a vaccine in the future was concluded.

Keywords: Leishmaniasis vaccines. Humans. Prevention & Control.

^{*} Ana Beatriz Campos de Souza, Divane Hannah Nóbrega de Melo, Igor Mendes Lima, João Eduardo Miranda Lima. Alunos do Curso de Medicina das Faculdades Integradas de Patos.

^{**}Orientadora. Doutora em Promoção de Saúde. Docente no Curso de Medicina das Faculdades Integradas de Patos. E-mail: minualsa@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose é uma doença parasitária, causada por protozoários do tipo Leishmania, que prevalece em múltiplas regiões, principalmente tropicais e subtropicais, onde se predomina nas regiões rurais (SILVA et al., 2013). Possui como vetor de transmissão o flebotomíneo, mas pode ter diversas formas de contaminação cruzada e a depender do tipo de protozoário exposto, manifesta-se distintamente, apresentando-se como leishmaniose muscoso cutânea, leishmaniose cutânea, leishmaniose cutânea ou leishmaniose visceral, esta última considerada a mais grave (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

Entre 2010 e 2017, dados epidemiológicos do Brasil indicaram 29.754 casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos e Notificação (SINAN), com predominância na região Nordeste, registrando 16.009 casos, o que corresponde a cerca de 53,80% (DATA-SUS, 2019). O país é atualmente responsável por 90% dos casos da América Latina, com incidência na ordem de 1,57 casos/100.000 habitantes e uma taxa de letalidade de 7,1%. Entre os grupos de risco, os mais susceptíveis são crianças com até nove anos de idade, compreendendo 41,9% dos casos humanos entre os brasileiros (MARCONDES; ROSSI, 2013). Para os autores, além dos elevados índices de letalidade e mortalidade, a leishmaniose visceral vem apresentando grande expansão geográfica no território brasileiro.

Portanto, a leishmaniose representa um grande desafio para o controle epidemiológico devido ao aumento da toxicidade da quimioterapia e a resistência ao mesmo (MARTÍNEZ-SILVA; RAMOS; BASTIDAS-PACHECO, 2016). Considerando esses fatores, o controle do vetor tornou-se extremamente difícil e a terapia medicamentosa não tem sido eficaz para erradicar a doença, porém a vacinação é uma forma de promover proteção em longo prazo para a redução ou erradicação da transmissão da infecção. Desse modo, programas de desenvolvimento de vacinas são necessários para diminuir a incidência de leishmaniose, embora ainda não exista nenhuma em uso (GHORBANI; FARHOUDI, 2017).

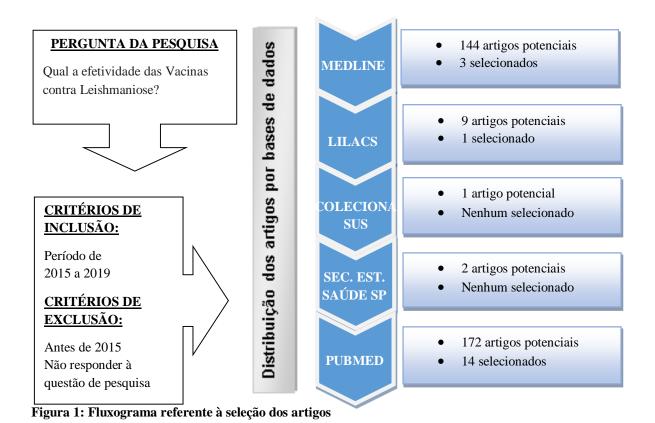
Este estudo foi feito para retratar o andamento de pesquisas que indicam alternativas eficazes e profiláticas contra a Leishmaniose. Possui relevância acadêmica e social. Academicamente, possibilitará novos horizontes acerca do estudo e investigações para a produção do conhecimento. No âmbito social, há a perspectiva de reduzir a incidência de fatalidades causadas por essa patologia bem como mais entendimento sobre a incidência, prevalência que integram a epidemiologia da doença.

2 MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de uma Revisão Integrativa, a qual de acordo com Botelho, Cunha e Macêdo (2011), é um procedimento que promove a integração de conhecimentos científicos já produzidos acerca da pergunta levantada na pesquisa. Ainda segundo os autores, o processo divide-se em seis etapas: identificação do tema e seleção da questão da pesquisa; estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão; identificação dos estudos préselecionados e selecionados; categorização dos estudos selecionados; análise e interpretação dos resultados; e apresentação da revisão ou síntese do conhecimento.

Seguindo o protocolo da revisão, na primeira etapa foi escolhido o tema "Desenvolvimento das vacinas contra Leishmaniose", com a questão "Quais os achados dos estudos quanto às vacinas contra leishmaniose?"; na segunda etapa, realizou-se um levantamento bibliográfico utilizando a Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e *Medical Publisher* (PUBMED). Para pré-seleção dos artigos, foram utilizados os Descritores Controlados em Ciências da Saúde (DeCS) "Vacinas contra Leishmaniose" e "Seres humanos" e definiu-se como critério de inclusão artigos do período de 2015 a 2019, e como critérios de exclusão artigos que não respondiam a questão de pesquisa, que não tratava de vacinas para humanos e artigos não gratuitos.

Na terceira etapa, obteve-se 328 artigos e, após aplicação dos critérios definidos na etapa anterior, 18 foram selecionados, conforme exposto na figura 1:



Na etapa quatro foi realizada identificação e categorização dos estudos selecionados seguindo os critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos, selecionando-se ano/país, título, periódico, tipo de estudo, base de dados, idioma e resultados; na etapa 5 foi elaborada uma análise com base na interpretação dos resultados obtidos nos artigos selecionados e categorizados; e por último, na etapa 6, por via dos métodos e conclusões dos artigos selecionados, uma conclusão pode ser feita, baseando-se de acordo com os resultados por eles apresentados.

3 RESULTADOS

De acordo com o quadro 1 abaixo, dentre os artigos selecionados, pode-se observar que que aproximadamente 55% foram publicados no ano de 2016. E os principais países de produção científica foram os Estados Unidos e Índia. Houve também predominância do idioma inglês nos artigos selecionados.

Quadro 1: - Características dos estudos selecionados para composição da pesquisa. Patos, PB, Brasil, 2019

Ano/País	Título	Periódico	BD	Idioma
2016	Vacunas contra Leishmania	Iatreia	LILACS	Espanhol
Colômbia	, acainas contra Beisinnaina			Espainior
2018 Iran	Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy?	Dove Medical Press Limited	PUBMED	Inglês
2016 Turquia	Overview of dendritic cell- based vaccine development for leishmaniasis	Parasite Immunology	PUBMED	Inglês
2016 Brasil	epitopes protects against visceral leishmaniasis	Parasite Immunology	PUBMED	Inglês
2016 Estados Unidos	Optimizing Immunization Strategies for the Induction of AntigenSpecific CD4 and CD8 T Cell Responses for Protection against Intracellular Parasites	Clinical and Vaccine Immunology	PUBMED	Inglês
2017 Iran	Liposomal adjuvant development for leishmaniasis vaccines	Therapeutic Advances in Vaccines	PUBMED	Inglês
2017 Tunisia	Pre-clinical antigenicity studies of an innovative multivalent vaccine for human visceral leishmaniasis.	Neglected tropical diseases	PUBMED	Inglês
2017 Estados Unidos	Not All Antigens Are Created Equally: Progress, Challenges, and Lessons Associated with Developing a Vaccine for Leishmaniasis.	Clinical and vaccine immunology	PUBMED	Inglês
2017 Alemanha	A third generation vaccine for human visceral leishmaniasis and post kala azar dermal leishmaniasis: First-in-human trial of ChAd63- KH	Neglected tropical diseases	PUBMED	Inglês
2016 Reino Unido	Immunoprotective responses of T helper type 1 stimulatory protein-S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase against experimental visceral leishmaniasis	Clinical and Experimental Immunology	MEDLINE	Inglês
2016 Índia	DNA vaccine against visceral leishmaniasis: a promising approach for prevention and control.	Parasite immunology	MEDLINE	Inglês
2017 Estados Unidos	An α-Gal-containing neoglycoprotein-based vaccine partially protects against murine cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania major	PLOS Neglected Tropical Diseases	MEDLINE	Inglês
2016 Índia	Possibilities and challenges for developing a successful vaccine for leishmaniasis	Parasites & Vectors	PUBMED	Inglês
2016 Estados Unidos	Strategic evaluation of vaccine candidate antigens for the prevention of Visceral Leishmaniasis.	Elsevier ScienceDirect	PUBMED	Inglês
2016 Estados Unidos	Status of vaccine research and development of vaccines for leishmaniasis	Elsevier ScienceDirect	PUBMED	Inglês
2016 Índia	Immunoprotective responses of T helper type 1 stimulatory protein-S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase against experimental visceral leishmaniasis.	Clinical and Experimental Immunology	PUBMED	Inglês
2015 Iran	Recombinant Leishmania major lipophosphoglycan 3 activates human T-lymphocytes via TLR2-independent pathway.	Journal of Immunotoxico logy	PUBMED	Inglês
2015 Índia	Recombinant NAD-dependent SIR-2 protein of Leishmania donovani: immunobiochemical characterization as a potential vaccine against visceral leishmaniasis.	PLOS Neglected Tropical Diseases	PUBMED	Inglês

Nos estudos sobre o desenvolvimento das vacinas contra Leishmaniose, foram testadas e usadas substâncias que se dividiram nas seguintes categorias: células, proteínas, antígenos e fatores genéticos, de acordo com a figura 2 abaixo. Além disso, essas categorias ainda se subdividem, podendo proporcionar vários tipos de possíveis princípios ativos para a descoberta da vacina.

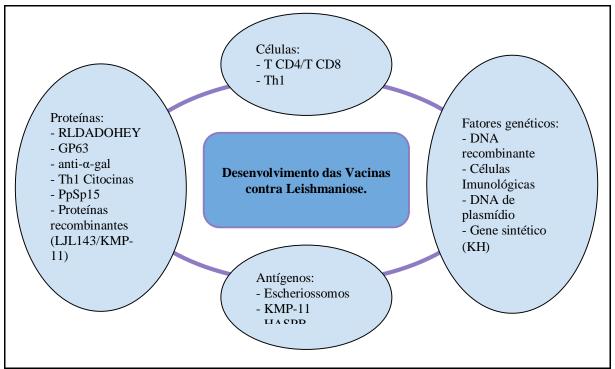


Figura 2: Categorização/Matriz de síntese dos achados.

3 DISCUSSÃO

A *Leishmania* é um patógeno intracelular obrigatório que se propaga por células fagocíticas hospedeiras e sua transmissão pode ocorrer tanto antroponoticamente quanto zoonoticamente a depender da espécie do vetor. As pessoas podem carregar certas espécies de leishmaniose por longos períodos sem apresentar complicações, cuja sintomatologia varia de acordo com a forma da patologia (GHOURBANI; FARHOLDI, 2018).

A leishmaniose é um problema de saúde mundial, haja vista que em suas regiões endêmicas os insetos vetores estão facilmente se adaptando às diferentes condições de ambiente, associadas aos procedimentos de quimioterapia que corroboram para o aumento da resistividade e prejudicam a recuperação dos acometidos (MARTÍNEZ-SILVA; RAMOS; PACHECO-BASTIDAS, 2016). Entretanto, mesmo que drogas antiparasitárias (como a

Anfotericina B) possam ter certo efeito sobre a infecção, nenhuma vacina ainda foi desenvolvida. (GHOURBANI; FARHOLDI, 2018).

Deste modo, impõe-se a importância do desenvolvimento de medidas profiláticas alternativas, como a vacinação, em decorrência de que as atuais formas de tratamento não apresentam tanta eficácia. Some-se a isto o fato de que populações de regiões endêmicas desenvolvem imunidade contra a leishmania (CECÍLIO et al., 2017).

Dentre os estudos pesquisados neste artigo, portanto, os resultados puderam ser divididos em algumas categorias de acordo a figura 2, como: antígeno, fatores genéticos, células e proteínas. O maior desafio no desenvolvimento de uma vacina da leishmaniose é expor um antígeno desse protozoário e, posteriormente, induzir as células de defesa de memória para que se tenha uma medida preventiva de caráter profilático.

Em um estudo realizado por Hofmeyer et al. (2016), experimentos para a exposição do antígeno de *Leishmania donovani* para as células T CD4 e CD8 para induzir a resposta de memória, utilizando os antígenos F3 com receptores Troll-4 e associando a agonistas GLA-SE ou ao produto genético adenoviral Ad5. Neste estudo, a mistura dos complexos Ad5-F3 e GLA-SE com o F3 formaram potenciais indutores da imunidade contra os patógenos intracelulares.

Ademais, um estudo [LABMED1] associou a Leishmania donavi com a Escuericuia coli (E. coli), utilizando também a técnica de proteína recombinante. Proteínas quiméricas, utilizando 8E, p21, e SMT, foram expressas pela E. coli, demonstrando que fornecem também proteção contra Leishmania donavi (DUTHIE, et. al. 2016).

Porém, em uma pesquisa experimental feita por Cecílio et al. (2017), o desenvolvimento da imunidade foi testada com proteínas recombinantes do vetor e do protozoário e concluiu-se que a proteína vetorial LJL143 apresentou maior eficácia do que as partículas KMP-11 e Leish-F3+ do protozoário na indução de células T CD4/CD8, e que a associação desses 2 componentes possui alta potencialidade para a formação de uma vacina. O ChAd63-KH é um adenovírus que expressou o gene sintético KH que também codificou a proteína KMP-11 e também outra, a HASPB, e a vacina deste adenovírus teve a capacidade de induzir respostas imunes em células T CD8 (OSMAN et al., 2017). Deste modo, vacinas com o material genético do protozoário estão demonstrando efetividade, de modo que o DNA se insere em um grupo de antígenos denominado LEISH-F (SRIVASTAVA et al., 2016).

Enzimas recombinantes, como a Leishmania donovani S-adenosil-L-homocisteína (rLdAdoHcy), também foram testadas em hamnsters e humanos em forma de vacina, mostrando-se promissoras no desenvolvimento da resposta imunológica. Esta enzima é uma

hidrolase que se mostrou presente em seres humanos previamente infectados, em um curto período após a aplicação da vacina, elevou os níveis de interleucinas, interferon e o fator de crescimento transformador (KHARE, 2016).

Baharia et al. (2015) fizeram uso da proteína LdSir2RP dependente de NAD+ da classe *Silent Information regulatory-2* (*SIR2 family* ou *sirtuin*), também pertencente ao conjunto de proteínas da *Leishmania dovani*. Os autores constaram que a proteína isolada se tornou uma candidata[LABMED1] a vacina, pois, sob um patamar imunobioquímico, apresenta função de desacetilase, e no meio intracelular, também vai gerar aumento de interleucinas e outros componentes da imunogenicidade.

Saindo do âmbito dos antígenos propriamente ditos, foi reconhecido por Askarizadeh et al. (2017) que adjuvantes, tais como os lipossomos, podem ser de grande eficácia na captação dos antígenos para as células apresentadoras de antígeno, sugerindo então o desenvolvimento de vacinas baseadas nas propriedades dos lipossomos.

Nessa perspectiva, componentes de membrana proporcionam formas de antígenos para o reconhecimento pelas células do corpo. Nos glicolipídios encontrados na membrana plasmática da Leishmania major, causadora da Leishmaniose cutânea, existe o α-Galactopiranosil (α-Gal), e sua forma sintética encontrada a partir de estudos em camundongos, NGP5B, fez dessa classe de proteínas como fatores que aumentam principalmente os níveis de citocinas Th-1 (ININGUEZ, 2017).

Respostas em células T CD4+ foram induzidas por um lipofosfoglicano-3 recombiante (rGLP-3), esses também componentes de membrana e seus fragmentos terminais (rNT-GLP-3) tiveram a capacidade de aumentar a expressão do gene CD69 na superfície de células T, que culminaram promovendo sua diferenciação em células T CD4+, tendenciando ao T Helper-1. Estes lipofosfoglicanos, principalmente o rNT-GLP, obtiveram a capacidade de resposta imune, mas sendo evidenciada a necessidade de mais estudos nesse tópico (HOSSENI et al., 2015).

4 CONCLUSÃO

Esta pesquisa evidencia a existência de várias estratégias para o desenvolvimento de uma vacina segura contra a Leishmaniose. Ensaios em populações endêmicas e não endêmicas de países da América do Sul, demonstraram segurança e imunogenicidade com a utilização de protótipos de vacinas. Outras foram criadas experimentalmente com o uso de material genético. Além disso, respostas de memória de células TCD4/TCD8 específicas para

o antígeno estimula rapidamente a proteção contra patógenos intracelulares em regiões onde o acesso a cuidados em saúde é limitado.

Igualmente, pacientes curados com terapia medicamentosa, fazendo uso de Anfotericina B e/ou Miltefosina, foram comparados com populações não endêmicas para avaliar a correlação entre exposição e imunidade.

Entretanto, até o momento, nenhuma vacina mostrou-se capaz de provocar a imunidade e controlar eficientemente a progressão da doença em humanos. Nas pesquisas selecionadas células, proteínas, antígenos e fatores genéticos foram descobertos como um meio para originar a terapia de vacinação futuramente.

REFERÊNCIAS

ASKARIZADEH, Anis et al. Liposomal adjuvant development for leishmaniasis vaccines. **Therapeutic Advances In Vaccines**, [s.l.], v. 5, n. 4-5, p.85-101, ago. 2017. SAGE Publications. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1177/2051013617741578>.

BAGIROVA, M. et al. Overview of dendritic cell-based vaccine development for leishmaniasis. **Parasite Immunology**, [s.l.], v. 38, n. 11, p.651-662, 27 out. 2016. Wiley. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/pim.12360>.

BAHARIA, Rajendra K et al. Recombinant NAD-dependent SIR-2 Protein of Leishmania donovani: Immunobiochemical Characterization as a Potential Vaccine against Visceral Leishmaniasis. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.1-26, 6 mar. 2015. Public Library of Science (PLoS).

Disponível em: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003557>.

BLANCO, Vinicius R.; NASCIMENTO-JÕNIOR, Nailton M.. Leishmaniasis: General Aspects Related with the Disease, the Parasite Cycle, Available Drugs, Novel Prototypes and Vaccines. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.861-876, 2017. Sociedade Brasileira de Quimica (SBQ). Disponível em:http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20170055>.

BOTELHO, Louise Lira Roedel; CUNHA, Cristiano Castro de Almeida; MACEDO, Marcelo. O método da revisão integrativa nos estudos organizacionais. **Gestão e Sociedade**, [s.l.], v. 5, n. 11, p.121-136, 2 dez. 2011. Revista Gestao e Sociedade. Disponível em: http://dx.doi.org/10.21171/ges.v5i11.1220.

CECÍLIO, Pedro et al. Pre-clinical antigenicity studies of an innovative multivalent vaccine for human visceral leishmaniasis. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 11, n. 11, p.1-26, 27 nov. 2017. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0005951>.

DUTHIE, Malcolm S. et al. Strategic evaluation of vaccine candidate antigens for the prevention of Visceral Leishmaniasis. **Vaccine**, [s.l.], v. 34, n. 25, p.2779-2786, maio 2016. Elsevier BV. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.04.067.

DUTHIE, Malcolm S.; REED, Steven G.. Not All Antigens Are Created Equally: Progress, Challenges, and Lessons Associated with Developing a Vaccine for Leishmaniasis. **Clinical And Vaccine Immunology**, [s.l.], v. 24, n. 7, p.1-7, 17 maio 2017. American Society for Microbiology. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1128/cvi.00108-17.

GHORBANI, Masoud; FARHOUDI, Ramin. Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy? **Drug Design, Development And Therapy**, [s.l.], v. 12, p.25-40, dez. 2017. Dove Medical Press Ltd.. Disponível em: http://dx.doi.org/10.2147/dddt.s146521.

GILLESPIE, Portia M. et al. Status of vaccine research and development of vaccines for leishmaniasis. **Vaccine**, [s.l.], v. 34, n. 26, p.2992-2995, jun. 2016. Elsevier BV. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.12.071.

HOFMEYER, Kimberly A. et al. Optimizing Immunization Strategies for the Induction of Antigen-Specific CD4 and CD8 T Cell Responses for Protection against Intracellular Parasites. **Clinical And Vaccine Immunology**, [s.l.], v. 23, n. 9, p.785-794, 27 jul. 2016. American Society for Microbiology. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1128/cvi.00251-16.

HOSSEINI, Maryam et al. RecombinantLeishmania majorlipophosphoglycan 3 activates human T-lymphocytes via TLR2-independent pathway. **Journal Of Immunotoxicology**, [s.l.], v. 13, n. 2, p.263-269, 16 jul. 2015. Informa UK Limited. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3109/1547691x.2015.1066906>.

INIGUEZ, Eva et al. An α-Gal-containing neoglycoprotein-based vaccine partially protects against murine cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania major. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 11, n. 10, p.1-25, 25 out. 2017. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0006039>.

KHARE, P. et al. Immunoprotective responses of T helper type 1 stimulatory protein-S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase against experimental visceral leishmaniasis. **Clinical & Experimental Immunology**, [s.l.], v. 185, n. 2, p.165-179, 27 abr. 2016. Wiley. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/cei.12780>.

KUMAR, A.; SAMANT, M.. DNA vaccine against visceral leishmaniasis: a promising approach for prevention and control. **Parasite Immunology**, [s.l.], v. 38, n. 5, p.273-281, 28 abr. 2016. Wiley. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/pim.12315>.

MARCONDES, Mary; ROSSI, Claudio Nazaretian. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**, [s.l.], v. 50, n. 5, p.341-352, 29 out. 2014. Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP. Disponível em: http://dx.doi.org/10.11606/issn.2318-3659.v50i5p341-352.

MARTÍNEZ-SILVA, e et al. Vacunas contra Leishmania. **Iatreia**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.170-181, 1 abr. 2016. Universidad de Antioquia. Disponível em: http://dx.doi.org/10.17533/udea.iatreia.v29n2a06>.

OSMAN, Mohamed et al. A third generation vaccine for human visceral leishmaniasis and post kala azar dermal leishmaniasis: First-in-human trial of ChAd63-KH. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 11, n. 5, p.1-24, 12 maio 2017. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0005527.

SILVA, Kathlenn Liezbeth Oliveira et al. Vacinas Contra Leishmaniose: Uma Revisão. **Archives Of Health Investigation**, Araçatuba, v. 2, n. 4, p.18-28, jun. 2013.

SRIVASTAVA, Saumya et al. Possibilities and challenges for developing a successful vaccine for leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.1-15, 12 maio 2016. Springer Nature. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1553-y.