



Categoría: Congreso de la Fundación Salud, Ciencia y Tecnología 2024

ORIGINAL

Trypanosoma cruzi infection: strategies for the development of a vaccine

Infección por Trypanosoma cruzi: estrategias para el desarrollo de una vacuna

Maria Katty Siclla Godoy¹  , Susana Irma Carnovale¹  .

¹Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud - Universidad Abierta Interamericana

Citar como: Siclla Godoy MK, Carnovale SI. Trypanosoma cruzi infection: strategies for the development of a vaccine. SCT Proceedings in Interdisciplinary Insights and Innovations. 2024; 2:351. DOI: <https://doi.org/10.56294/piii2024351>

Recibido: 06-03-2024

Revisado: 08-05-2024

Aceptado: 10-06-2024

Publicado: 12-06-2024

Editor: Rafael Romero-Carazas 

ABSTRACT

Background: The Chagas-Mazza disease is an infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and is considered one of the main public health problems in America. Because a large number of wild animals are *T. cruzi* reservoir, the lack of health policies for prevention and the lack of a vaccine, the infection cannot be eradicated. There are currently no vaccines against this Chagas disease, its development and application would be essential for the control of infection. **Material and methods:** A systematic review of study publications is carried out and metanalysis is carried out that integrates all available public information on the subject of study. **Results:** Over the years, a wide variety of vaccine platforms against Chagas-Mazza's disease have been investigated. The protection against the disease could be achieved by an mTS formulation plus a protein adjuvant. A recombinant protein derived from TS (TSr) together with the adjuvant CpG (TLR-9 agonist) was administered both intramuscular and intranasal with very good results. The glycosylated mutant trans-sialidase (TSm) formulation together with the adjuvant iscomatrix is highly effective, it reduces parasitemia by 50%. The nasal administration of Transpaine plus c-di-AMP is a highly immunogenic formulation that contributes to the control of the parasites, presenting less clinical evidence of infection and limited side effects. **Conclusion:** several research carried out so far and the progress made by immunization with vaccines using attenuated or inactivated live antigens or parasites or recombinant proteins in experimental models with promising results for the development of a vaccine in humans.

Keywords: Chagas disease; *Trypanosoma Cruzi*; vaccines; trans sialidase.

RESUMEN

Introducción: La Enfermedad de Chagas-Mazza es una infección causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi* y es considerada uno de los principales problemas de Salud Pública en América. Debido a que un gran número de animales silvestres son reservorio del *T. cruzi*, a las faltas de políticas de Salud para la prevención y a la falta de una vacuna la infección no puede erradicarse. Actualmente no existe vacunas contra esta enfermedad de Chagas, su desarrollo y aplicación serian fundamentales

para el control de la infección. **Material y métodos:** Se realiza una revisión sistemática de publicaciones de estudios y se realiza metaanálisis que integre toda la información pública disponible sobre el tema de estudio. **Resultados:** A lo largo de los años se han investigado una amplia variedad de plataformas de vacunas contra la enfermedad de Chagas-Mazza. La protección contra la enfermedad podría lograrse mediante una formulación de mTS más un adyuvante proteico. Una proteína recombinante derivada de TS (TSr) junto al adyuvante CpG (agonista del TLR9) se administró tanto de forma intramuscular como intranasal con muy buenos resultados. La formulación trans sialidasa mutante glicosilada (TSM) junto con el adyuvante iscomatrix es altamente efectiva, reduce un 50 % la parasitemia. La administración nasal de Transpaína más c-di-AMP, es una formulación altamente inmunogénica que contribuye con el control de los parásitos, presentando una menor evidencia clínica de la infección y efectos secundarios limitados. **Conclusión:** son varias las investigaciones realizadas hasta el momento y los avances obtenidos mediante la inmunización con vacunas que utilizan antígenos o parásitos vivos atenuados o inactivados o proteínas recombinantes en modelos experimentales con resultados promisorios para el desarrollo de una vacuna en humanos.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas; Trypanosoma cruzi; vacunas; trans sialidasa.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas-Mazza es causada por el Trypanosoma cruzi (TC). Es una enfermedad endémica en 21 países de las Américas y considerada desatendida por la salud pública prevalece en poblaciones con aspectos socioeconómicos- culturales deficitarios. Afecta un estimado de 6-7 millones de personas, con 30 mil casos nuevos anuales y 12 mil muertes anuales (1). La mayoría de los individuos afectados viven en América Latina. Sin embargo, las migraciones de personas infectadas pueden llevarla a países no endémicos de América y el Mundo. En zonas endémicas su transmisión es vectorial, por la picadura de un triatomino. Existen otros mecanismos de transmisión, como la ingestión de alimentos o bebidas contaminadas, la manipulación de animales infectados o de material de laboratorio, las transfusiones de sangre y el trasplante de órganos.

Durante el desarrollo de la enfermedad se describe una fase aguda que comienza con la infección y concluye cuando la parasitemia detectada microscópicamente se negativiza. La clínica se inicia entre 7 y 10 días de la infección y consiste en síntomas leves e inespecíficos que se asemejan a un cuadro gripal (fiebre, dolor de cabeza, malestar general), hepatoesplenomegalia, y a veces puede pasar desapercibida. Esta fase es seguida por una fase crónica asintomática que dura muchos años. Los parásitos son entonces difíciles de observar en sangre, y el diagnóstico se basa en pruebas serológicas. La mayoría de los pacientes permanecen en esta etapa indeterminada de por vida, mientras que el 20% del 40% comienzan a presentar una fase crónica sintomática caracterizada por una cardiomiopatía Chagásica que deriva en una insuficiencia cardíaca congestiva y la muerte.

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas depende en gran medida de la fase de la enfermedad que se encuentre el paciente. En la fase aguda de la enfermedad, en la forma congénita y en la reactivación durante la fase crónica (inmunosupresión), la parasitemia es elevada, por lo que el diagnóstico se basa en la detección del parásito por métodos directos en sangre periférica, (2).

El acceso a la prevención, el diagnóstico y tratamiento de la infección es muy bajo. La estrategia de prevención más eficaz incluye el control del vector, control de embarazadas y el tamizaje de banco de sangre ya que aún está pendiente el desarrollo de una vacuna eficaz.

El tratamiento de los pacientes con enfermedad de Chagas-Mazza se basa en 2 medicamentos desarrollados en la década de 1960: el Benznidazol y el Nifurtimox, y aunque su eficacia está bastante bien establecida durante la fase aguda de la infección y en los niños, su utilidad en la fase crónica y los

pacientes adultos sigue siendo debatida y actualmente se está llevando a cabo un gran ensayo clínico para aclarar ese punto, (3). La cura parasitológica sólo se logra cuando el tratamiento se administra en la fase aguda de la enfermedad, o en las primeras etapas de su forma crónica de allí surge la importancia de contar con una vacuna eficaz.

Entre la década de los 80 y 90 se intentó identificar Porciones inmunogénicas como proteínas, o Glicoproteínas del parásito capaces de inducir una respuesta inmune protectora contra la infección. También se identificaron los antígenos de la superfamilia de la trans-sialidasa, cisteína proteasa lisosomal cruzipaina, proteína de unión al calcio flagelar (Tc24).

En la infección natural, a pesar de la respuesta inmune compleja que incluye componentes humorales y celulares, la inmunidad innata y adquirida no son suficientes para eliminar el parásito de allí la importancia de encontrar una vacuna profiláctica y terapéutica.

Como se mencionó antes, la inmunidad mediada por células es esencial para el control del parásito, pero no eficiente, debido a que la respuesta de linfocitos T citotóxicos se limita a algunos epítomos de la superfamilia de la transialidasa (TS) dando lugar a la inmunodominancia como mecanismo de invasión inmune. Los antígenos y el mecanismo de invasión silenciosa del parásito contribuyen a la falta de detección de células infectadas durante el primer momento de la entrada y representan un desafío en el desarrollo de la vacuna profiláctica contra el TC.

Son varios los estudios realizados sobre la inmunización con parásitos vivos atenuados y muertos inactivados; también con por fracción celular; proteínas purificadas o proteínas recombinantes y ADN con el objetivo de encontrar una vacuna que prevenga esta enfermedad infecciosa (4)

MARCO TEÓRICO

Se realiza una revisión sistemática para evaluar los aspectos más importantes del desarrollo de la vacuna contra el TC. Se realizó una amplia búsqueda electrónica de la literatura relevante. La misma se llevó a cabo a través de buscadores de referencia tales como Pubmed, Mesh Browser, Google Scholar. Para ello fueron utilizados las palabras claves y los términos Mesh (Medical Subject Heading) como enfermedad de Chagas-Mazza, Trypanosoma Cruzi, vacunas, Trans sialidasa. Así mismo se identificaron ensayos clínicos, revisiones sistemáticas, estudios observacionales sin considerar el status de la publicación, resultados reportados, data o año de la publicación y con restricción del lenguaje al inglés y español.

Se analizaron los datos encontrados en la búsqueda electrónica con estudios previos acerca del desarrollo de las distintas vacunas experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

A lo largo de los años se han investigado una amplia variedad de plataformas de vacunas contra la enfermedad de Chagas-Mazza. Varias vacunas experimentales fueron evaluadas por diferentes investigadores. Da Costa KM y col utilizaron la enzima trans-sialidasa (TS), considerado factor de virulencia clave, como antígeno vacunal. El TC es un protozoario que no sintetiza ácido siálico, sino que expresa la enzima TS que cataliza la transferencia de ácido siálico de los glicoconjugados del huésped a la superficie del parásito (5).

Se demostró que la forma enzimática activa de la TS utilizada en las vacunas no era una forma segura para ser probada en humanos, debido a que producía en ratones una serie de efectos adversos (hepatotoxicidad, alteraciones del miocardio y el bazo). A partir de estos resultados se utilizaron miembros inactivos de la familia de la TS, pero no resultaron ser suficientemente eficientes en el proceso de inmunización, en función a esto, la estrategia más prometedora fue el uso de mutantes inactivos de la TS o fragmentos recombinantes inactivos, estos inmunógenos aseguran el mantenimiento de la

inmunogenicidad y presentan menos efectos adversos, por lo que se utilizó en diversos estudios preclínicos (6).

En la era de la Ingeniería genética, surgieron las vacunas basadas en proteínas recombinantes formadas por fragmentos de antígeno altamente inmunogénico. Las ventajas de estas vacunas es que son seguras y tienen menor probabilidad de producir efectos adversos severos. Sin embargo, se requirió el uso de adyuvantes para lograr una respuesta inmunitaria protectora adecuada (7).

En 2007 Hoft DF y col., realizaron un estudio preclínico, utilizaron una proteína recombinante derivada de TS (TSr) junto al adyuvante CpG (agonista de TLR-9). Se administra tanto de forma intramuscular como intranasal (en 2 dosis separadas por 15 días en cada uno de los casos). En ambos casos se obtuvo un buen nivel de protección. La administración intramuscular proporcionó buenos niveles séricos de IgG específica, indujo un perfil Th1 (IFN- γ), y también aumentó la supervivencia de los animales. A nivel nasal, su administración indujo niveles elevados de inmunoglobulinas específicas (IgG sérica e IgA en extractos fecales), controló la parasitemia y logró una mayor activación de células T CD4 y CD8 (8).

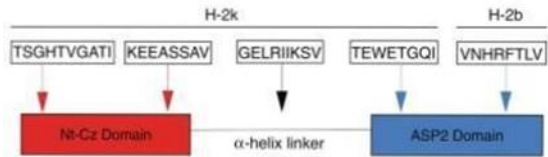
Germán H y col., investigadores del Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario llevaron a cabo un estudio preclínico donde se administró una TSr glicosilada que poseía una mutación en el sitio activo (TSm) y, emulsionada en adyuvante de Freund. En los animales inmunizados se observaron títulos elevados de anticuerpos específicos acompañado de una mayor tasa de supervivencia. No desarrollaron evidencia clínica o tisular de infección en comparación con los ratones infectados, pero no vacunados por el contrario 60% de mortalidad y 100% de ocurrencia de lesiones miocárdicas. Los títulos de anticuerpos circulantes contra TS no se correlacionaron con la protección, mientras que los anticuerpos anti-SAPA fueron coincidentes con la gravedad de la enfermedad (9). Unos años más tarde, Bontempi y col., utilizaron una transialidasa mutante glicosilada (TSm) junto con el nuevo adyuvante ISCOMATRIX (IMX). Esta nueva combinación de antígeno-adyuvante se aplicó mediante un esquema de 3 dosis. Con esta formulación se indujo a nivel sistémico la aparición de IgG contra TS. La respuesta celular hacia la TSm se evidenció por las pruebas de hipersensibilidad retardada (DHT) positivas, la secreción equilibrada de IFN γ e IL 10 por esplenocitos desafiados in vitro con TS y una fuerte producción de IFN γ en linfocitos T CD8. La efectividad de la vacuna fue alta ya que un alto porcentaje de los animales que recibieron TSm+ISCOMATRIX sobrevivieron. Esta formulación vacunal logró un mejor control de la carga parasitaria tisular no sólo durante la etapa aguda sino también durante la crónica. Los ratones inmunizados con mTS-IMX tenían 50 veces menos parasitemia que los ratones no inmunizados. Los resultados indicaron que la protección contra la enfermedad podría lograrse mediante una formulación de mTS más un adyuvante de antígeno proteico que sea compatible con la medicina humana. Esta vacuna es candidata a ser probada en el futuro en ensayos clínicos (10).

En 2107 A. Alberti y col., evaluaron la administración nasal de Transpaína, inmunógeno quimérico trivalente, combinado con la estimulación con c-di-AMP (agonista de STING) como un nuevo adyuvante mucoso, esta formulación obtuvo una sólida respuesta inmune humoral y celular (CD8 + y CD4+) específica de patógenos, compatibles con un sesgo Th1/ TH17. La producción de IL-17 se ha asociado con la protección durante la fase aguda de la infección, contribuyendo al control de los parásitos y aumentando la supervivencia de los animales infectados.

Por otra parte, la cruzipaina, la principal cisteína proteasa del TC, es una glicoproteína sulfatada que tiene participación en múltiples funciones relevantes del parásito para favorecer los fenómenos de invasión celular, facilitar la degradación proteolítica de los tejidos del huésped y para activar el mecanismo de evasión de la respuesta inmune del huésped, por lo cual se la consideró relevante para el desarrollo de vacunas (11).

Para el diseño de la Transpaína seleccionaron el dominio N-terminal de la Cruzipaina (Nt-Cz), la mayor proteasa de la cisteína se usó por la función de capacidad de protección y excluyendo el dominio c-terminal que distrae la respuesta inmune; la región central de la proteína de la superficie de Amastigote 2 (ASP2) se formó en función a sus propiedades protectoras en su ubicación dentro de la membrana del

parásito y del patrón de expresión; y una trans-sialidasa inactiva (iTS) un antígeno importante y un factor de virulencia, para generar un antígeno quimérico, (fig.1) (12)



La efectividad vacunal de la formulación Traspaina+diAMPc fue elevada, ya que los ratones inmunizados evidenciaron un menor score clínico durante la infección y lograron controlar las lesiones tisulares clásicas de la fase crónica. El objetivo principal de la vacuna profiláctica es prevenir la infección confiriendo inmunidad esterilizante. Sin embargo, todavía se pueden detectar parásitos en ratones vacunados con Traspain, así como en todas las vacunas propuestas hasta ahora (7).

El TC puede infectar a través de conjuntiva o mucosa oral, por lo tanto, la inducción de inmunidad mucosa mediante la vacunación es relevante no solo para desencadenar la protección local, sino también para estimular respuestas tanto humorales como mediadas por células. En base a lo mencionado María F. Pacini y col. realizaron estudios demostrando que una vacuna nasal que utiliza un fragmento TS más el agonista c-di-AMP era altamente inmunogénica con gran capacidad profiláctica. Sin embargo, aún se desconoce el perfil inmunológico inducido por las vacunas nasales basadas en TS en el tejido linfóide asociado a la nasofaringe (NALT), el sitio objetivo de la inmunización nasal. Se analizaron la expresión de citoquinas NALT generada por una vacuna basada en TS más c-di-AMP (TSdA+c-di-AMP) y su asociación con la inmunogenicidad mucosa y sistémica. Se administró por vía intranasal, en 3 dosis separadas por 15 días entre sí. Los ratones hembra BALB/c inmunizados por vía intranasal con TSdA+c-di-AMP potenciaron la expresión NALT de IFN- γ e IL-6, así como de IFN- β y TGF- β . TSdA+c-di-AMP aumentó la secreción de IgA específica de TSdA en las fosas nasales y también en la mucosa intestinal distal. Además, los linfocitos T y B de los ganglios linfáticos cervicales y del bazo que drenan NALT mostraron una intensa proliferación después de la estimulación ex vivo con TSdA. Estos datos respaldan que la vacuna nasal de TSdA+c-di-AMP desencadena un patrón mixto NALT de citoquinas que se asociaron con una inmunogenicidad mucosa y sistémica evidente. Estos resultados permitieron comprender mejor las respuestas inmunes provocadas por NALT después de la inmunización intranasal y el diseño racional de estrategias de vacunación con TS (13).

La vacuna nasal puede desencadenar la activación del sistema inmunológico y lleva a una respuesta inmune local de la mucosa y sistémica efectiva que generalmente no se logra mediante la administración parenteral. Sin embargo, a pesar de que las vías naturales de transmisión de TC se producen a través de la mucosa oral o conjuntiva, esta vía de vacunación ha sido menos evaluada.

Julia Castro, Rory Brito y col. Realizaron otro modelo experimental en base a ASP-2/ trans-sialidasa (TS), esta proteína recombinante codificada en plásmidos o adenovirus humano 5 (hAd5) confiere protección contra los diversos linajes de TC. Esta proteína contiene las regiones más inmunogénicas para los linfocitos T y B de TS y ASP-2 (TRASP). Se emplearon una combinación de plásmidos que codifican ASP-2 y TS seguido de un impulso con el hAd-ASP-2 y hAd-TS, con 21 de diferencia. La vacunación con cada una de las proteínas recombinantes individuales no fue tan eficaz por eso se diseñó TRANSP una proteína quimérica que contiene ASP-2 y TS. Los resultados fueron muy eficientes ya que generaban anticuerpos específicos de TRASP y la producción de IFN por T CD4 + y CD8 +. Por lo que genera una fuerte protección contra TC a los ratones inmunizados hasta 90 días después de realizado. Es una formulación altamente inmunogénica, presenta efectos secundarios limitados y protege a los perros contra los desafíos experimentales del TC, (14).

Actualmente Francesco Ramponi investigador del ISGlobal y su grupo de colaboradores están desarrollando el Proyecto CRUZIVAX, este consiste en desarrollar Traspain mencionada anteriormente,

este proyecto tiene varios objetivos, como realizar estudios preclínicos para evaluar la eficacia y seguridad de la vacuna, también en el estudio de la economía de la salud para orientar la fase inicial de desarrollo de las vacunas y mejorar la calidad de vida, (15) Estos estudios se centraron en la región del Gran Chaco, que se extiende por Argentina, Bolivia y Paraguay, y tiene una carga muy alta de enfermedad de Chagas. Debido a la emigración latinoamericana a Europa, este estudio también se centró en España (16).

Se enfocaron en los objetivos de Estudio de Economía de la Salud: Investigar las preferencias de los pacientes y de los decisores sanitarios de las vacunas candidatas en Argentina y España. Investigar la calidad de vida relacionada con la salud de los pacientes afectados por la enfermedad de Chagas. Evaluar los ahorros potenciales asociadas con las vacunas para los proveedores de la salud, en términos de uso de recursos y costos de atención médica.

En este proyecto se evalúa la calidad de vida relacionada con la salud mediante el cuestionario EQ-5D-3L. Este cuestionario posee 5 dimensiones: Movilidad, cuidado personal, actividades habituales, dolor/malestar, depresión/angustia. Según este cuestionario la calidad de vida es menor en pacientes positivos. La vacuna ya pasó las pruebas en ratones, perros y primates, pero no aún en humanos.

Cuestionario EQ-5D-3L:

Movilidad	
No tengo problemas para caminar	<input type="checkbox"/>
Tengo algunos problemas para caminar	<input type="checkbox"/>
Tengo que estar en cama	<input type="checkbox"/>
Cuidado-Personal	
No tengo problemas con mi cuidado personal	<input type="checkbox"/>
Tengo algunos problemas para lavarme o vestirme solo	<input type="checkbox"/>
Soy incapaz de lavarme o vestirme solo	<input type="checkbox"/>
Actividades Habituales (ej. trabajar, estudiar, hacer tareas domésticas, actividades familiares o realizadas durante el tiempo libre)	
No tengo problemas para realizar mis actividades habituales	<input type="checkbox"/>
Tengo algunos problemas para realizar mis actividades habituales	<input type="checkbox"/>
Soy incapaz de realizar mis actividades habituales	<input type="checkbox"/>
Dolor/Malestar	
No tengo dolor ni malestar	<input type="checkbox"/>
Tengo un dolor o malestar moderado	<input type="checkbox"/>
Tengo mucho dolor o malestar	<input type="checkbox"/>
Angustia/Depresión	
No estoy angustiado o deprimido	<input type="checkbox"/>
Estoy moderadamente angustiado o deprimido	<input type="checkbox"/>
Estoy muy angustiado o deprimido	<input type="checkbox"/>

DISCUSIÓN

Las opciones de tratamiento para la enfermedad de Chagas- Mazza son limitadas. La eficacia de la quimioterapia convencional con nifurtimox o benznidazol es baja. La mayoría de las personas en la fase crónica de la infección son resistentes al tratamiento con quimioterapia convencional y portan la infección de por vida. Además, estos tratamientos frecuentemente causan reacciones adversas y podrían hacer que los pacientes crónicos sean susceptibles al desarrollo de resistencia a los medicamentos.

Desafortunadamente, Aún no hay ninguna vacuna disponible para la Enfermedad de Chagas y hay pocos fondos disponibles para apoyar el desarrollo de una vacuna. Sin embargo, se han probado varios antígenos o parásitos vivos atenuados como candidatos a vacunas en modelos experimentales.

El propósito de una vacuna experimental es que debe centrarse en la reducción del daño asociado a la inflamación crónica. La asociación con Transpain + c-diAMP dio como resultado ser eficaz, y confiere protección contra diferentes cepas de parásitos y ratones independientemente del sesgo sexual de la infección por TC.

El proyecto Cruzivax proporciona información nueva y crucial sobre las preferencias en torno a las nuevas vacunas potenciales, las características de la población objetivo y el impacto potencial en los sistemas de salud en entornos endémicos y no endémicos.

Las proteínas TS-GI se consideran candidatas prometedoras para una vacuna contra TC. La mayoría de estos estudios se han realizado mediante vías sistémicas de inmunización y, en menor medida, mediante vías mucosas. La administración intranasal de un fragmento de TS más c-di-AMP es altamente inmunogénica con alta capacidad profiláctica.

CONCLUSIÓN

Es significativo el impacto de la enfermedad de Chagas- Mazza en América Latina ya que afecta a millones de personas. Por ello es fundamental contar con una vacuna como medida preventiva fundamental para combatir esta enfermedad. Son varias las investigaciones realizadas hasta el momento y los avances obtenidos mediante la inmunización con vacunas que utilizan antígenos o parásitos vivos atenuados o inactivados o proteínas recombinantes en modelos experimentales, aunque desafortunadamente aún no hay ninguna vacuna disponible para esta enfermedad en humanos

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana). OMS; 2023, [https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-\(americantrypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-(americantrypanosomiasis)).
2. Molina Israel, Salvador Fernando, Sánchez-Montalva Adrián, “Actualización en enfermedad de Chagas, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica”, Volumen 34, Número 2, 2016, Páginas 132-138.
3. Pérez-Molina, José A. y Pérez-Ayala, Ana y Moreno, Santiago y Fernández-González, M. Carmen y Zamora, Javier y López-Vélez, Rogelio, Uso de benznidazol para tratar la enfermedad de Chagas crónica: una revisión sistemática con un metaanálisis Revista de quimioterapia antimicrobiana, Volumen 64, página 1139-1147, 2009.
4. Rodríguez-Morales Olivia, Monteón-Padilla Víctor, Carrillo-Sánchez Silvia, Rios-Castro Martha, Martínez-Cruz Mariana, Carabarin-Lima Alejandro, Arce-Fonseca Minerva, “Experimental Vaccines against Chagas Disease: A Journey through History”, Journal of Immunology Research, vol. 2015, Article ID 489758, 8 Pages, 2015.
5. da Costa KM, Marques da Fonseca L, Dos Reis JS, Santos MARDC, Previato JO, Mendonça-Previato L, Freire-deLima L. Trypanosoma cruzi trans-Sialidase as a Potential Vaccine Target Against Chagas Disease. Front Cell Infect Microbiol. 2021 oct 26; 11:768450. PMID: PMC8576188.
6. Dinatale B, Bulfoni Balbi C, González F B, Pérez A R y Pacini M F. (2020) “Desarrollos preclínicos de vacunas profilácticas contra la Enfermedad de Chagas basadas en Transialidasa” Rev Fac Cs Méd UNR. Vol. 1: pp. 23 a 38.

7. Augusto E. Bivona, Andrés Sánchez Alberti, Natacha Cerny, Sebastián N. Trinitario, Emilio L. Malchiodi, “Diseño de vacuna contra la enfermedad de Chagas: la búsqueda de un control inmunomediado eficaz contra el *Trypanosoma cruzi*”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Base molecular de la enfermedad*, Volumen 1866, Número 5, 2020.
8. Hoft DF, Eickhoff CS, Giddings OK, Vasconcelos JR, Rodrigues MM “Trans-sialidase recombinant protein mixed with CpG motif-containing oligodeoxynucleotide induces protective mucosal and systemic *Trypanosoma cruzi* immunity involving CD8+ CTL and B cell-mediated cross-priming”. *J Immunol*. 2007 nov 15;179(10):6889900.
9. Germán H. Fontanella, Kristof De Vusser, Wouter Laroy, Lucas Daurelio, Ana Lía Nocito, Silvia Revelli, Rolando Contreras, “La inmunización con una trans-sialidasa mutante diseñada protege en gran medida a los ratones de la infección experimental por *Trypanosoma cruzi*: una vacuna candidata”, Volumen 26, Número 19, 2008, Páginas 2322-2334.
10. Iván Alejandro Bontempi, Miguel Hernán Vicco, Gabriel Cabrera, Silvina Raquel Villar, Florencia Belén González, Eduardo Angel Roggero, Paul Ameloot, Nico Callewaert, Ana Rosa Pérez, Iván Sergio Marcipar, “Eficacia de una vacuna candidata de subunidad transsialidasa-ISCOMATRIX para proteger contra la enfermedad de Chagas experimental”, Volumen 33, Número 10, 2015, Páginas 1274-1283.
11. Duschak G. Vilma y Couto S. Alicia, “Cruzipain, la cisteína proteasa principal de *Trypanosoma cruzi*: un antígeno glicoproteico sulfatado como candidato relevante para el desarrollo de vacunas y objetivo farmacológico” ... Una revisión, *Química medicinal actual* 2009; 16 (24).
12. Sánchez Alberti, A., Bivona, A.E., Cerny, N. et al. “Engineered trivalent immunogen adjuvanted with a STING agonist confers protection against *Trypanosoma cruzi* infection”, *npj Vaccines* 2, 9 (2017).
13. Pacini Maria F., Bulfoni Balbi Camila, Dinatale Brenda, Florencia B. González, Estefanía Prochetto, Maria A. De Hernández, Pamela Cribb, Cecilia Farré, Martín Espariz, Víctor S. Blancota, Christian Magni, Marcipar Iván, Ana R. Pérez, “La vacuna intranasal basada en transialidasa contra *Trypanosoma cruzi* desencadena un perfil mixto de citoquinas en el tejido linfoide asociado a la nasofaringe y confiere inmunogenicidad local y sistémica”, *Acta Trópica*, Volumen 241, 2023, 106889.
14. Castro, J.T., Brito, R., Hojo-Souza, N.S. et al. “ASP2/Trans-sialidase chimeric protein induces robust protective immunity in experimental models of Chagas’ disease. *Npj Vaccines* 8, 81 (2023).

15. Ramponi Francesco, Aerts celine, Sartor Paula, Pinazo Maria Jesus, Freilij Héctor, Guzmán Carlos A., Malchiodi Emilio, Elisa Sicuri, “Desarrollo de vacunas para la enfermedad de Chagas (CRUZIVAX): preferencias de los actores interesados y posibles impactos en la salud”, *Gaceta Sanitaria*, Volumen 37, 2023,102275.

16. de Villasante Fuentes, M., & Pastor, P. H. (2015). “El diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Actualización en Medicina de Familia”, 11(3), 141-145.

FINANCIACIÓN

Ninguna.

CONFLICTO DE INTERÉS

Ninguno.