

MANUEL ELKIN PATARROYO
Director del Instituto de Inmunología del Hospital
de San Juan de Dios (Santa Fé de Bogotá)

DESARROLLO DE VACUNAS
SINTÉTICAS. EL EJEMPLO
DEL PALUDISMO



DESARROLLO DE VACUNAS SINTÉTICAS. EL EJEMPLO DEL PALUDISMO

Manuel Elkin Patarroyo

Director del Instituto de Inmunología del Hospital
de San Juan de Dios (Santa Fé de Bogotá)

EN 1985 expertos en malaria invitados por la OMS a través de uno de sus programas (Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases) se reunieron para determinar y sugerir pautas en el desarrollo de vacunas contra la malaria (WHO, 1985); de acuerdo a sus recomendaciones las vacunas candidatas deben pasar varias fases que verifiquen su seguridad y efectividad; estas fases han sido recorridas con éxito en el desarrollo de SPf66.

El proceso se inicia con estudios pre-clínicos en modelos animales. Una vez finalizados éstos de forma satisfactoria, se inician los estudios en humanos siguiendo los principios éticos indicados en la Declaración de Helsinki de 1984 con respecto a seguridad, protección y beneficio para el individuo.

Los objetivos fundamentales de los estudios en humanos son los de determinar la seguridad, tolerabilidad, inmunogenicidad, protección (inicialmente en retos experimentales bajo estricto seguimiento clínico) y eficacia en condiciones naturales de transmisión de malaria en poblaciones expuestas. Estos son los objetivos de las Fases I a III. La Fase IV se refiere a la monitorización de la seguridad y eficacia una vez introducida como medida de salud pública.

Distintos tipos de vacunas candidatas se pueden desarrollar; éstas varían de acuerdo a los distintos frentes inmunológicos que presenta el parásito a lo largo de su complejo ciclo de vida. Inicialmente se trabajó en el desarrollo de vacunas contra el esporozoito, las cuales sólo si fueran 100% efectivas impedirían que las personas se infectaran. Por otro lado están las vacunas que operan produciendo anticuerpos que bloquean la fertilización durante los estadios sexuales del parásito. Este tipo de vacuna que no protege al individuo inmunizado, requiere vacunar a una gran proporción de la población para lograr controlar la transmisión. Otro tipo de vacuna son las vacunas contra las formas asexuales eritrocíticas del parásito, que incluso siendo sólo parcialmente efectivas pueden reducir la morbi-mortalidad ocasionada por la malaria. Mas recientemente ha surgido una idea de vacuna que tiene el potencial de reducir morbilidad al inhibir la respuesta inmunopatológica del huésped. Finalmente están

los "cócteles" de vacunas que son una combinación de las anteriormente descritas.

Distintas moléculas de los diversos estadios del parásito se han descrito y vienen desarrollándose como candidatas de vacunas desde 1936 (Boyd and Kitchen, 1936). Sin embargo a pesar de las numerosas candidatas a vacunas (Mendis, 1991; Zicker, 1994) ninguna de ellas, excepto la SPf66 ha logrado demostrar satisfactoriamente seguridad, inmunogenicidad, tolerabilidad, protección en retos experimentales y eficacia en distintas poblaciones expuestas (Valero et al., 1993; Alonso et al., 1994; Tanner et al., 1995).

La SPf66, diseñada y sintetizada químicamente por nosotros en el II de Bogotá-Colombia, es la primera vacuna contra la malaria en llegar a estudios de Fase III con resultados satisfactorios. Esta vacuna multiestadio es un péptido sintético cuyo monómero consiste en la secuencia de aminoácidos de tres proteínas del estadio asexual del parásito (83, 55 y 35 kDa) del *P. falciparum*. Estas secuencias están unidas por la secuencia PNANP derivada de la proteína del circunsporozoito del parásito (estadio infectivo) (Patarroyo et al., 1988). La SPf66 es una vacuna diseñada esencialmente para disminuir la morbi-mortalidad ocasionada por la invasión de los merozoitos a los glóbulos rojos. Siendo éste el tipo de vacuna que requieren los habitantes de zonas en donde la transmisión de la malaria es alta o moderada, como la observada en los países de África Sub-Sahariana y más concretamente en Tanzania (Tanner et al., 1995).

1. EVIDENCIAS SOBRE SEGURIDAD Y TOLERABILIDAD

La seguridad y tolerabilidad han sido evaluadas en un total de 18.634 individuos. El 99% de estos individuos han sido vacunados en América del Sur. Los grupos étnicos que conforman el grupo de vacunados son: descendientes de África Occidental (afro-americanos), mestizos (mezcla de amerindio y caucásico), africano oriental (Tanzano) y caucásicos.

Todos estos individuos eran mayores de 1 año de edad y de ambos sexos. Hasta el momento no se han vacunado sujetos con historia de alergias o mujeres embarazadas. Estos individuos residían en zonas de malaria inestable (Colombia, Venezuela y Ecuador) o en zonas de malaria estable con alta transmisión (Tanzania).

Los datos sobre la seguridad y tolerabilidad de la vacuna están resumidos en la Tabla 1. Se observaron (clínicamente) los efectos locales y sistémicos y además se realizaron exámenes de laboratorio que midieron los perfiles hematológicos, de función renal y hepática y auto-inmunidad.

Todos los estudios han mostrado que SPf66 es segura y bien tolerada. De estos estudios los que aportan la evidencia más sólida son los aleatorizados doble-ciegos controlados con placebo llevados a cabo en La T (Ecuador) (Sempertegui et al., 1994), La Tola (Colombia) (Valero et al., 1993) e Idete (Tanzania) (Alonso et al., 1994) en un total de 2.763 voluntarios. Estos estu-

dios han confirmado los resultados de informes previos (Amador et al., 1992; Amador et al., 1992a; Rocha et al., 1992).

Menos del 6% de los vacunados han presentado molestias leves consistentes en dolor local e induración (efecto esperado y encontrado con cualquiera de las vacunas que actualmente se aplican a menores de 5 años) que desaparecen en corto tiempo y sin necesidad de tratamiento. Estos síntomas leves se presentaron con mayor frecuencia dentro de los que recibieron SPf66 en La T e Idete pero no en La Tola.

Sólo se ha reportado una reacción urticaria generalizada severa en uno de los primeros voluntarios (Patarroyo et al., 1988). Esta reacción fue atribuida a problemas con la diálisis del primer lote de la vacuna. Después de cambiar el sistema de diálisis para desalinizar, esta reacción no se ha vuelto a presentar. Por otro lado, 37 (0,2%) individuos (en su mayoría mujeres) de 15.351 (Tabla 1) presentaron síntomas consistentes en hipotensión o prurito que requirieron tratamiento con antihistamínicos y completa recuperación antes de 30 minutos. Sin embargo, desde el punto de vista epidemiológico estas reacciones no se pueden atribuir a la vacuna debido a que no había grupo control. Es importante recalcar que estas reacciones no se han observado en estudios controlados, aleatorizados y doble-cegos.

En conclusión, hasta el momento todos los estudios coinciden en mostrar que la vacuna SPf66 es segura y bien tolerada por individuos mayores de 1 año de edad.

TABLA 1

RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS SOBRE SEGURIDAD
Y TOLERABILIDAD DE LA VACUNA SPf66

<i>País</i>	<i>Tamaño muestra</i>	<i>Controles</i>	<i>Intervalo dosis (días)</i>	<i>Seguridad * (n)* (n)s *</i>	<i>Referencia</i>
Colombia 18-21 m*	5	3	0,60	(2) local	Patarroyo 1988
Colombia 18-21 m	6	3	0,60,80	(3) local	Patarroyo 1988
Colombia 18-21 m	193	130	0,20,220	(1) general A*	Amador 1992a
Colombia 18-21 m	206	84	0,20,90	(4) local	Amador 1992a
Colombia 18-21 m	152	no	0,30,150	(3) local	Rocha 1992
Colombia 18-21 m	200	84	0,30,180	'pocos' local	Rocha 1992
Colombia >1 m, f	15.351	no	0,30,180	(37) sistémicas leves D*	Amador 1992b

TABLA 1 (continuación)

<i>País</i>	<i>Tamaño muestra</i>	<i>Controles</i>	<i>Intervalo dosis (días)</i>	<i>Seguridad * (n)* (n)s *</i>	<i>Referencia</i>
Colombia 1-14 m, f	292	no	0,30,180	(12) local	Patarroyo 1992
Colombia > 1 m, f	1.548	810	0,30,180	(16) local	Valero 1993
Ecuador > 1 m, f	537	238	0,30,180	(97)s local	Sempertegui 94
Tanzania 18-55 m	12	2	0,30,180	(69) local	Teuscher 1994
Tanzania 18-55 m	30	10	0,30,180	(14) local	Teuscher 1994
Tanzania 1-5 m, f	50	25	0,30,180	(7) local	Teuscher 1994
Tanzania 1-5- m, f	586	312	0,30,180	(28) local	Alonso 1994
Venezuela > 1 m	2.362	938	0,30,112	(123) local	Noya 1994

A = erupción urticaria generalizada.

D = reacciones sistémicas.

m* = edad y sexo (m = masculino, f = femenino).

Seguridad = efectos después de cualquier dosis.

(n) = número de vacunados que presentaron efectos secundarios (diferencias no estadísticamente significativas).

(n)s = número de vacunados que presentaron efectos secundarios (diferencias estadísticamente significativas).

2. EVIDENCIAS SOBRE INMUNOGENICIDAD

La inmunogenicidad se ha evaluado midiendo la respuesta humoral con pruebas inmunoquímicas tipo ELISA en todos los ensayos y midiendo la respuesta celular con pruebas de proliferación y ensayos de inhibición *in vitro* en algunos de ellos (Tabla 2).

Todos los estudios han mostrado que SPf66 es inmunogénica. La respuesta humoral (medida en anticuerpos) ha sido significativamente más alta en los que han recibido SPf66 comparada con la respuesta de los que recibieron el placebo (Valero et al., 1993; Sempertegui et al., 1994; Alonso et al., 1994). Se ha observado que esta respuesta varía de acuerdo a los individuos y el lugar. Por ejemplo, en un área con una de las transmisiones de malaria más altas del mundo, Idete (Tanzania) (Alonso et al., 1994; Teuscher et al., 1994) SPf66 mostró ser mucho más inmunogénica que en América del Sur. La vacuna indu-

jo un incremento substancial de anticuerpos después de cada dosis. Esta respuesta humoral es independiente de la exposición previa del individuo, indicando que los anticuerpos producidos por la vacuna reconocen muy bien los epitopes del merozoito de *P. falciparum* en condiciones naturales de exposición e independientemente del tipo de transmisión de malaria existente (Tan-ner M et al., 1995). Los estudios en América del Sur no encontraron relación entre los títulos de anticuerpos y el nivel de protección obtenido en los inmu-nizados (Valero et al., 1993). Esta evaluación se está realizando con los datos obtenidos en Idete, resultados que próximamente estarán a disposición.

TABLA 2

RESUMEN DE LOS PRINCIPALES RESULTADOS SOBRE LA INMUNOGENICIDAD DE SPf66 (RESULTADOS OBTENIDOS DESPUÉS DE 2 Ó 3 DOSIS EN INDIVIDUOS MAYORES DE 1 AÑO)

<i>País</i>	<i>N.º de indi-viduos (va-cunados)</i>	<i>Incremento en: títulos de anticuerpos (en x% de va-cunados) o me-dia geométrica; 3.ª dosis A*</i>	<i>PBMC* (incremento post 3.ª dosis)</i>	<i>EIC* (in-cremento post 3.ª dosis)</i>	<i>Referencia</i>
Colombia (18-21) m*	5 (3)	2 a 3 veces en 100%	3 a 9 veces	NA	Patarroyo 1988
Colombia (18-21) m	5 (2)	1.1 a 7 en 50%	2 a 16 veces	NA	Patarroyo 1988
Colombia (18-21) m	193 (63)	2 a 12 veces en 46%	NA	24 veces	Amador 1992a
Colombia (18-21)M	206 (122)	2 a 12 veces en 40%	NA	17 veces	Amador 1992a
Colombia (18-21) m	152 (152)	B*	NA	C*	Rocha 1992
Colombia (18-21) m	200	D*	NA	NA	Rocha 1992
Colombia (>1) m, f	15.351 (15.351)	> 8 veces en 55%	NA	NA	Amador 1992
Colombia (1-14) m, f	401 (401)	Seroconversión* en 93%	NA	NA	Patarroyo 1992
Colombia (> 1) m, f	1.548 (738)	6 veces (33%)	NA	NA	Valero 1993
Ecuador (> 1) m, f	537 (299)	14 veces (57%)	NA	NA	Sempertegui 1994
Tanzania (18-55) m E*	12 (10)	110 veces media geométrica (IC95% 43-283)	NA	NA	Teuscher 1994

TABLA 2 (continuación)

<i>País</i>	<i>N.º de individuos (vacunados)</i>	<i>Incremento en: títulos de anticuerpos (en x% de vacunados) o media geométrica; 3.ª dosis A*</i>	<i>PBMC* (incremento post 3.ª dosis)</i>	<i>EIC* (incremento post 3.ª dosis)</i>	<i>Referencia</i>
Tanzania (18-55) m	30 (20)	36 veces media geométrica (IC95% 18-74)	NA	NA	Teuscher 1994
Tanzania (1-5) m, f	50 (25)	61 veces media geométrica (IC95% 37-100)	NA	NA	Teuscher 1994
Tanzania (1-5) m, f	586 (274)	8,3 veces media geométrica (p. < 0.001)	NA	NA	Alonso 1994
Venezuela (> 1) m, f	2.362 (1.422)	1 a 2 veces en 60.4%	NA	NA	Noya 1994

m = edad y sexo (m = masculino, f = femenino).

A = incremento en relación a los valores pre-inmunización (ELISA).

B = mejores títulos con hidróxido de aluminio en comparación con fosfato de calcio; (p. < 0.05).

C = más alto con hidróxido de aluminio en comparación con fosfato de calcio.

D = efecto 'boosting' de anticuerpos anti-SPf66 fue más evidente en el grupo que recibió 2 mg de SPf66 comparado con 1.0 mg y 0.5 mg.

E = caucásicos.

EIC = ensayos de inhibición de crecimiento in vitro.

NA = no aplicable.

PBMC = ensayos de proliferación de células mononucleares en sangre periférica.

Seroconversión = títulos > 1:20.

Sin embargo, el hecho de que hasta el momento no exista un marcador serológico de protección no es preocupante debido a las siguientes razones: i) hay evidencia suficiente de que la SPf66 es eficaz en reducir el riesgo de padecer malaria (Tanner et al., 1995), ii) el mecanismo de algunas vacunas ampliamente utilizadas como BCG y aquella contra la *B pertussis* no se conoce (Milstien, 1993; Galazka, 1993), iii) la razón de por qué unos niños desarrollan malaria complicada y otros no, tampoco se conoce (Greenwood et al., 1991; Gupta et al., 1994).

Hay evidencia suficiente acerca de la inmunogenicidad de la SPf66, siendo la respuesta inmune humoral más alta en zonas de alta transmisión.

3. EVIDENCIAS SOBRE LA EFICACIA

La prueba de la eficacia de una vacuna es obtenida idealmente en estudios de intervención aleatorizados controlados con placebo (Orenstein, 1988; Smith et al., 1991a; Smith et al., 1991b). Hasta el momento contamos con los resultados de 5 estudios, llevados a cabo en Colombia, Ecuador y Tanzania, que cumplen con estos requisitos (Tabla 3), realizados por grupos de investigadores independientes, hecho que le da más validez a las evidencias sobre la eficacia de la SPf66.

Estos estudios fueron ejecutados bajo estrictos protocolos epidemiológicos que han mostrado que la SPf66 tiene una efectividad en reducir la incidencia de episodios clínicos de malaria en poblaciones naturalmente expuestas en los siguientes porcentajes: i) en La Tola, Colombia en un 33,6% [intervalo de confianza del 98% (IC95%): 18,8 - 45,7], ii) en La T, Ecuador en 60,2% (IC95%: -26 -87,5) y iii) en Idete, Tanzania, en 31% (IC95%: 0 - 52) (Valero et al., 1993; Sempertegui et al., 1994; Alonso et al., 1993).

TABLA 3

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS Y LOS RESULTADOS SOBRE EFICACIA DE 3 DOSIS DE LA VACUNA SPf66 EN PREVENIR EPISODIOS DE MALARIA

País	Tamaño muestra		Doble ciego	Rando-mizado	Proporción de casos reportados de malaria entre:		Eficacia de SPf66 (Intervalo de confianza del 95% o valor de p)	Referencias
	Controles				V*	C*		
Colombia 18-21 m	5	3	no	no	2/5	3/3	60% A*	Patarroyo 1988
Colombia 18-21 m	193	130	sí	sí	1/63	5/130	58.8% (p = 0.264)	Amador 1992a
Colombia 18-21 m	206	84	sí	sí	1/122	4/84	82.8% (p = 0.09)	Amador 1992a
Colombia > 1 m, f	1.548	810	sí	sí	152/738	242/810	33.6% (p < 0.001)	Valero 1993
Ecuador > 1 m, f	537	238	sí	sí	4/230	12/238	60.2% (-26 -87.5)	Sempertegui 1994
Tanzania 1-5 m, f	586	312	sí	sí	0.25 D*	0.35 E*	31% (p = 0.046)	Alonso 1994
Venezuela > 1 m	2.362	938	no	no	4.5 F*	5.6 G*	55% (p < 0.01)	Noya 1994

A= reto experimental mirando posibilidad de protección (no eficacia).

C= controles.

D y E= riesgo de incidencia anual.

F y G= casos/1.000 individuos-mes a riesgo.

m*= edad y sexo (m= masculino, f= femenino).

V= vacunados con SPf66.

Todos los estudios, como se observa en la Tabla 3, han mostrado que los individuos que reciben la SPf66 se protegen contra la malaria en comparación con aquellos de los grupos control.

Los resultados publicados hasta el momento sugieren que la vacuna tiene un efecto de inmunidad contra el estadio asexual sanguíneo pre-eritrocítico del parásito mas no un efecto esporozoítico. Este efecto de la vacuna reduce la densidad de parásitos en sangre y por ende la incidencia de episodios de malaria clínica. Este tipo de vacuna llena los requisitos que debe tener una vacuna contra la malaria para zonas endémicas, y particularmente para el África Sub-Sahariana (Tanner et al., 1995).

Es importante anotar que aunque el estudio de Idete, Tanzania no fue diseñado para reportar diferencias significativas de mortalidad, éste reportó un total de 6 niños fallecidos, de los cuales cinco habían recibido placebo y uno la vacuna SPf66. Los episodios clínicos de malaria prevenidos por la inmunidad inducida por la SPf66 probablemente fueron los casos potenciales de malaria severa y por lo tanto es posible que esta vacuna reduzca la mortalidad ocasionada por malaria en una proporción más alta que aquella reportada para episodios clínicos en Idete. Este hecho justifica aún más la evaluación de SPf66 en un estudio amplio de mortalidad y/o malaria severa (Trape and Rogier, 1995).

Estudios adicionales se están llevando a cabo con SPf66 en otros países. En Gambia, el London School of Hygiene and Tropical Medicine con la financiación del UK Medical Research Council Laboratories en Fajara vacunaron aproximadamente 600 niños entre 6 y 11 meses de edad; los resultados están pronto a publicarse. En Tailandia, el Walter Reed Army Institute Research ha vacunado 1.500 niños entre las edades de 8 a 15 años en un campo de refugiados, este estudio se encuentra en la fase de seguimiento de los individuos. En Rosario (Colombia) se vacunaron 1.500 personas, los resultados están siendo analizados actualmente. A corto plazo se contará con más datos que complementarán la ya amplia información existente sobre la SPf66. Estos resultados no determinarán la ejecución de futuros proyectos con SPf66 en Morogoro, Tanzania ya que la transmisión de malaria es distinta a la observada en las áreas de los estudios anteriormente mencionados.

REFERENCIAS

- ALONSO, P. L., SMITH, T. et al. Randomised trial of efficacy of SPf66 against *Plasmodium falciparum* malaria in children in southern Tanzania. *Lancet* 1994; 344: 1175-81.
- AMADOR, R., MORENO, A., VALERO, V., MURILLO, L., PATARROYO, M. E. et al. The first field trials of the chemically synthesized malaria vaccine SPf66: safety, immunogenicity and protectivity. *Vaccine* 1992a; 10:3: 179-184.
- AMADOR, R., MORENO, A., PATARROYO, M. E. et al. Safety and immunogenicity of the synthetic malaria vaccine SPf66 in a large field trial. *JID* 1992b; 166: 139-144.
- BOYD, M. F. and KITCHEN, S. F. Is the acquired homologous immunity to *Plasmodium vivax* equally effective against sporozoites and trophozoites? *Am J. Trop. Med.* 1936; 16: 317-322.

- GALAZKA, A. *The immunological basis for immunization: Pertussis*. World Health Organization Geneva, 1993.
- GREENWOOD, B., MARSH, K. and SNOW, R. Why do some african children develop severe malaria? *Parasitology Today* 1991; 7;10: 277-81.
- GUPTA, S., HILL, A. V. et al. Parasite virulence and disease patterns in *Plasmodium falciparum* malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 26; 91; 9: 3715-19.
- MENDIS, K. N. Malaria vaccine research – a game of chess. In: TARGETT, G. A. T. (Ed.), *Malaria, waiting for the vaccine*. London School of Hygiene and Tropical Medicine. First Annual Public Health Forum. John Wiley & Sons, 1991.
- MILSTEIN, J. *The immunological basis for immunization: Pertussis*. World Health Organization Geneva, 1993.
- NOYA, O., GABALDON, Y., SIFONTES, R. et al. A population-based clinical trial with the SPf66 synthetic *Plasmodium malaria* vaccine in Venezuela. *JID* 1994; 170: 396-402.
- ORENSTEIN, W. A., BERNIER, R. H. and HINMAN, A. R. Assessing vaccine efficacy in the field: further observations. *Epidemiologic Reviews* 1988; 10: 212-239.
- PATARROYO, M. E., AMADOR, R., CLAVIJO, P., et al. A synthetic vaccine protects humans against challenge with asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 1988; 332; 10: 158-161.
- PATARROYO, G., FRANCO, L., AMADOR, R. et al. Study of the safety and immunogenicity of the synthetic malaria SPf66 vaccine in children aged 1-14 years. *Vaccine* 1992; 10; 3: 175-178.
- ROCHA, C. L., MURILLO, L. A., MORA, L. A., PATARROYO, M. E., et al. Determination of the immunization schedule for field trials with the synthetic malaria vaccine SPf66. *Parasite Immunology* 1992; 14; 95: 95-108.
- SEMPERTEGUI, F., ESTRELLA, B., MOSCOSO, J., ZICKER, F., et al. Safety, immunogenicity and protective effect of the SPf66 malaria synthetic vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in a randomized double-blind placebo controlled field trial in an endemic area of Ecuador. *Vaccine* 1994; 12; 4: 337-342.
- SMITH, P. and MORROW, R. H. (eds.) (1991a). *A Manual for Field Trials of Interventions against Tropical Diseases*, Oxford University Press, Oxford.
- SMITH, P. G. and HAYES, R. J. Design and conduct of field trials of malaria vaccines. In: TARGETT, G. A. T. (Ed.), *Malaria, waiting for the vaccine*. London School of Hygiene and Tropical Medicine. First Annual Public Health Forum. John Wiley & Sons, 1991b.
- TANNER, M., TEUSCHER, T. and ALONSO, P. L. SPf66 the first malaria vaccine. *Parasitology Today* 1995; 11; 1: 10-13.
- TEUSCHER, T., ARMSTRONG, J. R. M., ALONSO, P. L., et al. SPf66, a chemically synthesized subunit malaria vaccine, is safe and immunogenic in Tanzanians exposed to intense malaria transmission. *Vaccine* 1994; 12; 4: 328-336.
- TRAPE, J. F. and ROGIER, C. Efficacy of SPf66 vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria in children. *Lancet* 1995; 345: 134. Letter.
- VALERO, M. V., GALINDO, C. M., PATARROYO, M. E., et al. Vaccination with SPf66, a chemically synthesised vaccine, against *Plasmodium falciparum* malaria in Colombia. *Lancet* 1993; 341; 8847: 705-710.
- World Health Organization. Principles of malaria vaccine trials: report of a join meeting of the scientific working groups on immunology of malaria and applied field research in malaria. *TDR/INMAL-FIELDMAL/VAC/1985.3A*.
- ZICKER, F. Malaria vaccines: from laboratory to field. *Epidemiological Bulletin. Pan America Health Organization* 1994; 15; 1: 1-8.