

Vacuna anti-*Pseudomonas*

AMPARO ESCRIBANO

Unidad de Neumología Infantil. Hospital Clínico Universitario. Universidad de Valencia. Valencia. España.

aescribano@separ.es

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo gramnegativo ampliamente distribuido en la naturaleza. Su gran adaptación al medio le permite vivir en cualquier ambiente y sus requerimientos nutricionales son tan pequeños que es capaz de crecer en agua destilada. En hospitales, por ejemplo, se puede encontrar reservorios potenciales de *P. aeruginosa* en las unidades de cuidados intensivos, donde suelen estar asociados con el agua de fregaderos o con los equipos respiratorios, pero también en equipos sanitarios como yesos, marcapasos y aspiradores o en algunos alimentos, como vegetales crudos.

P. aeruginosa es conocida por su resistencia a muchos antibióticos. Puede producir proteínas dañinas que causan extenso daño tisular e interfieren con los mecanismos de defensa del huésped. El descubrimiento de su genoma¹ ha permitido identificar genes implicados en su locomoción, adhesión, transporte y utilización de nutrientes, flujo de antibióticos y sistemas de respuesta a cambios ambientales. Todo ello va a facilitar, sin duda, un mejor conocimiento de sus mecanismos patogénicos y abrir nuevas perspectivas en el terreno de la investigación vacunal.

Epidemiología

P. aeruginosa es un importante patógeno, causa de una amplia gama de infecciones agudas y crónicas. Raramente afecta a personas sanas, pero es una eficiente bacteria oportunista que causa graves infecciones en sujetos con enfermedades subyacentes².

Históricamente ha sido el agente causal de complicaciones infecciosas graves en quemados; la principal causa de bacteriemia en pacientes neutropénicos y desde la introducción de las drogas antiestafilocócicas, el patógeno más prevalente y característico en los pacientes con fibrosis quística (FQ). Sin embargo, desde el inicio de los años ochenta, algunas de estas asociaciones han ido perdiendo relevancia, de modo que, actualmente, en Europa occidental y en Norteamérica, su papel en la infección de pacientes neutropénicos febriles es poco importante, posiblemente por la inclusión de antibióticos anti-*Pseudomonas* en los protocolos terapéuticos. Similares tendencias han ocurrido en quemados.

Por el contrario, la incidencia de infecciones por *P. aeruginosa* en pacientes con FQ no ha disminuido. *P. aeruginosa* es la causa más común de fallo respiratorio en las FQ y responsable de la mayoría de las muertes de estos enfermos³. La infección bronquial por *P. aeruginosa* comienza en la infancia, con cepas no mucoides que son las primeras en detectarse⁴. Se cree que el organismo es inicialmente adquirido desde fuentes ambientales, pero la diseminación paciente-a-paciente también ocurre en clínicas y familias⁵. Mas tarde, *P. aeruginosa* presenta una serie de cambios fenotípicos, como la frecuente pérdida de los flagelos y pilis con el fin de evitar la detección de estos elementos inmunógenos por parte de los receptores específicos del huésped⁶; la formación de colonias mucoides en las que excesivas cantidades de alginato reducen su susceptibilidad a los antibióticos y previenen su fagocitación por polimorfonucleares y macrófagos⁷, o la adquisición de multiresistencia. Además, son capaces de formar biopelículas con las que quedan en un estado de semilatenencia en situaciones de estrés (fig. 1).

El resultado es una excesiva producción de proteasas, radicales superóxidos y mediadores de la inflamación que contribuyen a la destrucción del tejido pulmonar. Por ello, la aparición de aislados mucosos de *P. aeruginosa* es señal del comienzo de la fase crónica de la infección y el inicio del declive progresivo de la función pulmonar, ya que los anticuerpos opsonicos producidos por el huésped son incapaces de matar a estos organismos mucoides⁸. Todo ello explica la cronicidad de la infección, su casi imposible erradicación, tanto natural como terapéutica, los efectos deletéreos en el pulmón y su contribución al pronóstico fatal de la enfermedad.

Puntos clave

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista que infecta principalmente a pacientes hospitalizados, sometidos a ventilación mecánica o afectados de determinadas enfermedades (neutropénicos, fibróticos quísticos).

P. aeruginosa causa infección crónica de la vía aérea en la mayoría de las personas con fibrosis quística. Una vez establecida, es prácticamente imposible eliminarla y se asocia con mayores mortalidad y morbilidad.

En los últimos 30 años, múltiples estudios han testado diferentes factores de virulencia como posibles antígenos vacunales, pero sólo unos pocos se han planteado como ensayos clínicos multicéntricos, aleatorizados y controlados a largo plazo.

La tendencia más actual va dirigida hacia preparados vacunales obtenidos por combinaciones de diferentes antígenos o utilizando la potencia inmunogénica de alguno de ellos por separado.

Hasta el momento, no hay evidencia suficiente para el uso de una vacuna en la práctica clínica.

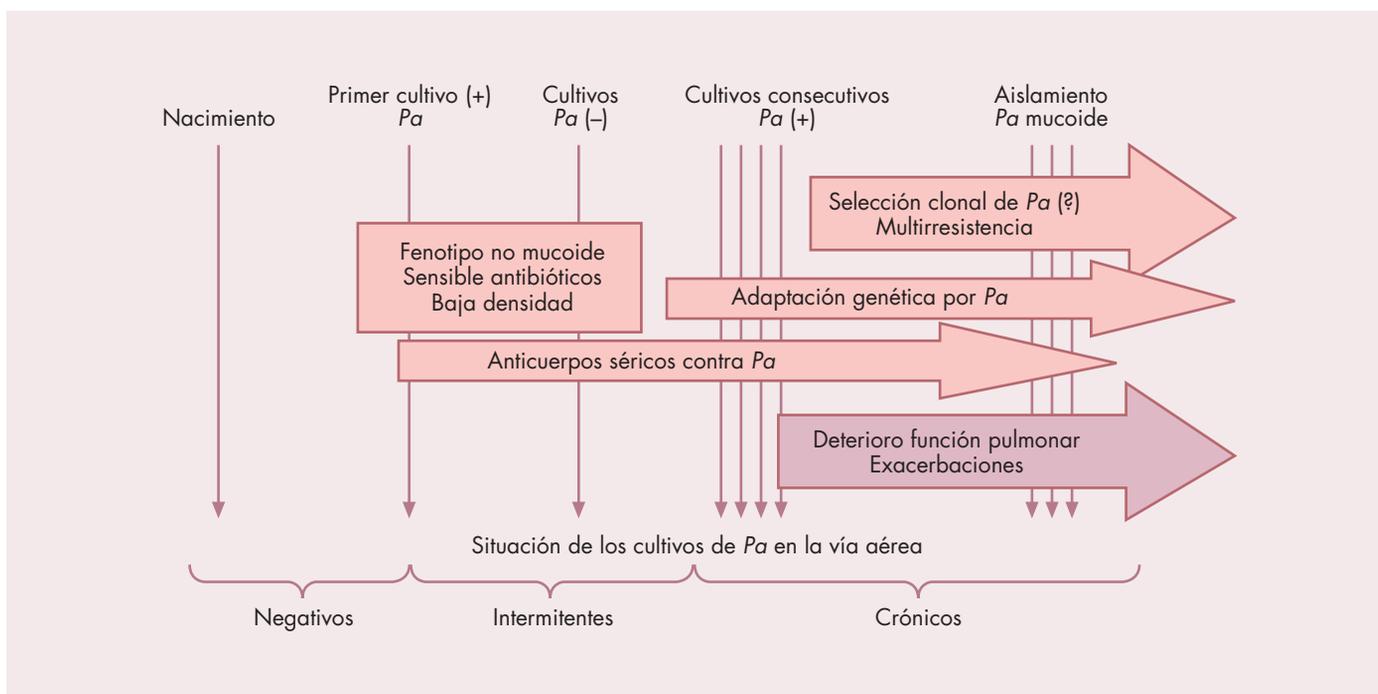


Figura 1. Evolución de la infección de la vía aérea por *P. aeruginosa* (*Pa*) en los pacientes con fibrosis quística. (Modificado de Rosenfeld et al⁹.)

P. aeruginosa es también un patógeno significativo en otros tipos de infección pulmonar. Pacientes con bronquiectasias portan eventualmente *P. aeruginosa*, a veces multirresistente. Continúa siendo una frecuente causa de bacteriemia nosocomial⁹, así como de infecciones del tracto urinario y de heridas cutáneas y quirúrgicas. Es la causa más común de neumonía asociada al ventilador y arrastra la mortalidad más alta entre las infecciones adquiridas en el hospital¹⁰. Por último, su papel en la etiología de las infecciones comunitarias ha ido en aumento, como en foliculitis, otitis externa, neumonía, osteomielitis por heridas de punción, endocarditis en drogadictos, infección peritoneal en pacientes sometidos a diálisis ambulatoria y neumonía o bacteriemia adquirida en la comunidad en pacientes con inmunodeficiencia adquirida.

Tabla 1. Factores celulares y de virulencia asociados a *P. aeruginosa* utilizados como posibles antígenos para inmunoterapia^{11,12,14}

Lipopolisacárido
Exotoxina A
Ribosomas
Flagelo
Pili
Polisacáridos de alto peso molecular
Alginato/exopolisacárido mucóide
Proteínas de la pared celular
Multicomponentes/conjugados
ADN
Proteínas del sistema de secreción tipo III

Vacunación contra *Pseudomonas*

Aunque la introducción de nuevos antibióticos con actividad contra *Pseudomonas* fue inicialmente prometedora, la innata capacidad de este organismo para adquirir resistencias a los nuevos fármacos pronto fue un problema para controlar estas infecciones. Se hacía necesario buscar recursos alternativos para tratar y prevenir estas infecciones.

Extensos estudios de investigación sobre la patogenia de *P. aeruginosa* han permitido descubrir una serie de factores asociados a la virulencia que pueden ser utilizados como antígenos vacunales¹¹ (tabla 1). No todos tienen el mismo poder inmunogénico ni se relacionan con los mismos procesos infecciosos (las proteasas se asocian a la FQ, por ejemplo, y la exotoxina A, no), por lo que la neutralización de un determinado factor no previene, mejora o elimina la morbilidad de todas las infecciones por *P. aeruginosa*¹².

En los últimos 30 años han sido múltiples los estudios llevados a cabo sobre posibles candidatos vacunales, enfocados la mayor parte a prevenir la infección en pacientes quemados y FQ¹³. Holder resume, en 2 revisiones^{12,14}, los pasos dados hasta hoy.

En los años sesenta, ciertos componentes de la pared celular (lipopolisacáridos, LPS) comenzaron a utilizarse como antígenos, creyendo que los anticuerpos opsonizantes creados por el huésped eliminarían la bacteria y abortarían la infección. A medida que los distintos serotipos O de *P. aeruginosa* fueron mejor conocidos, se desarrollaron vacunas LPS multivalentes que fueron probadas, durante al menos 2 décadas, en animales y pacientes (quemados, neoplásicos y afectados de enfermedad pulmonar aguda y crónica), con resultados positivos especialmente en quemados. A pesar de ello, estas vacunas, debido a su naturaleza LPS y a sus potenciales efectos secundarios, nunca lograron aceptación clínica. Años más tarde, en un intento de paliar sus riesgos, varios investigadores volvieron a utilizar LPS de alto peso molecular como po-

sibles candidatos vacunales, con resultados esperanzadores en animales. Sin embargo, actualmente no existe ningún interés en este tipo de inmunoterapia.

Tras la identificación de la exotoxina A, se pensó que los animales infectados con *P. aeruginosa* sufrían una muerte "tóxica", incluso durante las fases en las que el tratamiento reducía al mínimo la carga bacteriana infectante. La neutralización de esta toxina podría, por tanto, aumentar la supervivencia, incluso en la fase de cronicidad. Trabajos posteriores demostraron que la antitoxina sólo lograba este objetivo si simultáneamente se reducía la carga bacteriana con antibióticos, por lo que no llegaron siquiera a plantearse ensayos clínicos. Aun así, actualmente se están probando vacunas conjugadas combinando toxoides de exotoxina A con otros inmunógenos.

Otra serie de estudios evaluó la capacidad de los ribosomas y vacunas ribosomales ARN para mejorar la supervivencia de animales infectados por *P. aeruginosa*, pero aunque obtuvieron algún resultado favorable, ante la duda de que algunas preparaciones se hubieran contaminado por LPS, dejaron de potenciarse.

Cuando se demostró que la motilidad de *P. aeruginosa* se asociaba a virulencia, muchas investigaciones se dirigieron al estudio de los flagelos como posibles inmunógenos, y demostraron la eficacia de la inmunización flagelar en animales quemados. Lo atractivo de esta vacunación era que, al existir sólo dos inmunotipos de flagelos en *P. aeruginosa*, un compuesto divalente podía ser doblemente eficaz. Esta vacuna ha sido testada para proteger de la infección tanto a quemados como a pacientes con FQ. En estos últimos se dispone de resultados preliminares de un ensayo multicéntrico¹⁵, del que aún no se han publicado los resultados definitivos¹⁴. Otra posibilidad es utilizar los pili como proteínas vacunales, ya que se sabe que el suero antipili es capaz de inhibir la adhesión de la bacteria ciliada a las células epiteliales in vitro.

En pacientes con FQ, debido a la relación entre *P. aeruginosa* mucóide y los mecanismos patogénicos de la infección broncopulmonar, creció el interés por usar exopolisacárido mucóide y alginato de *Pseudomonas* como inmunógeno. A pesar de algunos resultados alentadores en animales, la aplicación clínica de estas vacunas no ha llegado a realizarse.

Otro foco de atención se centró, durante al menos 2 décadas, en algunas proteínas de la membrana externa, como la proteína F, que tiene poder antigénico y se encuentra en todos los serotipos. Estudios realizados en animales (quemados, inmunodeprimidos y con enfermedad pulmonar aguda y crónica) demostraron que estas vacunas son bien toleradas y causan un incremento potente y mantenido en la titulación de anticuerpos. Más tarde se vio en pacientes quemados que estos anticuerpos tenían una alta actividad opsofagocítica contra *P. aeruginosa* y que la IgG que generaban tenía efecto protector cuando se utilizaba como inmunización pasiva en ratones infectados por *P. aeruginosa*. En la actualidad el interés por estas vacunas, administradas de forma aislada o en combinación con otros compuestos, sigue siendo alto.

Las vacunas conjugadas comenzaron a desarrollarse desde que se inició la investigación sobre inmunoterapia contra *Pseudomonas* y hasta el momento actual siguen teniendo relevancia. Muchas de las primeras vacunas consistían en toxoides de factores de virulencia conocidos, como proteasas, elastasas y exo-

toxina A, junto con algún componente de la pared celular, y fueron testadas en ratones, generalmente quemados. Más tarde se mostró su efectividad en animales con infección pulmonar crónica y en ratones inmunodeprimidos con infección intestinal, y recientemente un conjugado de LPS-toxina A¹⁶ ofreció unos resultados prometedores en pacientes con FQ (alta titulación de anticuerpos asociada a baja incidencia de infección)¹⁷, que finalmente no han podido ser corroborados.

En los últimos años se están desarrollando vacunas de ADN e inmunización genética o la combinación de anticuerpos monoclonales contra una variedad de antígenos y epitopos de elastasa de *P. aeruginosa*. Los primeros trabajos han mostrado que este tipo de anticuerpos es seguro y bien tolerado, pero su total eficacia ha de ser demostrada en ensayos a doble ciego con un mayor número de pacientes.

Otros modelos vacunales utilizan proteínas derivadas del sistema de intoxicación/secreción tipo III o presentan determinados antígenos de *P. aeruginosa* al huésped a través de las membranas mucosas (nasal, digestiva...), con resultados prometedores.

Aplicación clínica

Desde un punto de vista práctico, podemos conocer la aplicabilidad y utilidad de estas vacunas en los pacientes con FQ a través de una revisión Cochrane, actualizada en febrero de 2006¹⁸. En ella los autores identifican 6 estudios, de los que excluyen 2 por no ser aleatorizados, 1 por falta de datos, 1 por estar pendiente publicación¹⁹ y 1 porque no había concluido (Lang et al. *P. aeruginosa* vaccine: Phase III trial. Double-blind, randomised, placebo-controlled, multicentre, multinational trial. Ongoing study. April 2001. Comunicación personal). El único que cumple los criterios de inclusión utiliza una mezcla de LPS en niños, sin mostrar ningún beneficio clínico en 10 años de seguimiento (Langford DT, Hiller EJ. A prospective, controlled study of a polyvalent *Pseudomonas* vaccine in patients with cystic fibrosis [abstract]. Proceedings of the 12th Annual Meeting European Working Group for Cystic Fibrosis; 1983 Oct; Athens. 1983:60-7. Comunicación personal). Con esta insuficiente información, los revisores concluyen que en el momento actual ninguna vacuna puede ser recomendada e insisten en la urgente necesidad de evaluar nuevas vacunas en ensayos multicéntricos, aleatorizados y controlados, de adecuado poder estadístico, que estudien las variables inmunológicas y clínicas pertinentes a lo largo de varios años e incluya el seguimiento de los vacunados en los que se aísle *P. aeruginosa*¹⁸.

En marzo de 2006 finalizó el estudio de Lang (vacuna conjugada LPS frente a placebo, en 476 pacientes con FQ seguidos desde 2001) y sus resultados, aún no publicados, no permiten cambiar esta opinión. Confirman que la vacuna es segura, pero no detectan diferencias significativas entre vacunados y no vacunados, ni en las tasas de colonización (el 2% en ambos), ni en los demás parámetros evaluados (infección crónica, tiempo hasta primer aislamiento, exacerbaciones...). Por todo ello coincidimos con Holder¹⁴ en que, aunque ninguna vacuna anti-*Pseudomonas* puede ser utilizada todavía en la práctica diaria, la búsqueda continúa y actualmente la meta parece más alcanzable.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

■ Epidemiología

■ Metaanálisis

■ Ensayo clínico controlado

1. ●● Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrenner P, Hickey MJ, et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*. 2000;406:959-64.
2. Sadikot RT, Blackwell TS, Christman JW, et al. Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:1209-23.
3. Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2002;34:91-100.
4. Li Z, Kosorok MR, Farrell PM, Laxova A, West SE, Green CG, et al. Longitudinal development of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis. *JAMA*. 2005;293:581-8.
5. ● Rosenfeld M, Ramsey BW, Gibson RL. *Pseudomonas* acquisition in young patients with cystic fibrosis: pathophysiology, diagnosis, and management. *Curr Opin Pulm Med*. 2003;9:492-7.
6. Mahenthalingam E, Campbell ME, Speert DP. Nonmotility and phagocytic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from chronically colonized patients with cystic fibrosis. *Infect Immun*. 1994;62:596-605.
7. Govan JR, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol Rev*. 1996;60:539-74.
8. Sheppard MN. The pathology of cystic fibrosis. En: Hodson ME, Geddes DM, editores. *Cystic fibrosis*. London: Chapman & Hall Medical; 1995.
9. Molina-Cabrillana J, Santana-Reyes C, Hernández J, et al. [Incidence of nosocomial infections at a neonatal intensive care unit: a six-year surveillance study]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;24:307-12.
10. Berthelot P, Grattard F, Mallaval FO, Ros A, Lucht F, Pozzetto B. Epidemiology of nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathol Biol (Paris)*. 2005;53:341-8.
11. Stanislavsky ES, Lam JS. *Pseudomonas aeruginosa* antigens as potential vaccines. *FEMS Microbiol Rev*. 1997;21:243-77.
12. Holder IA. *Pseudomonas* vaccination and immunotherapy: an overview. *J Burn Care Rehabil*. 2001;22:311-20.
13. Sedlak-Weinstein E, Cripps AW, Kyd JM, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: the potential to immunize against infection. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5:967-82.
14. ●● Holder IA. *Pseudomonas* immunotherapy: an historical overview. *Vaccine*. 2004;22:831-39.
15. Doring G, Dorner F. A multicenter vaccine trial using the *Pseudomonas aeruginosa* flagella vaccine IMMUNO in patients with cystic fibrosis. *Behring Inst Mitt*. 1997;98:338-44.
16. Cryz SJ Jr, Lang A, Rudeberg A, Wedgwood J, Que JU, Furer E, et al. Immunization of cystic fibrosis patients with a *Pseudomonas aeruginosa* O-polysaccharide-toxin A conjugate vaccine. *Behring Inst Mitt*. 1997;98:345-9.
17. Lang AB, Rudeberg A, Schoni MH, Que JU, Furer E, Schaad UB. Vaccination of cystic fibrosis patients against *Pseudomonas aeruginosa* reduces the proportion of patients infected and delays time to infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:504-10.
18. ●● Johansen HK, Gotzsche PC, Keogan MT. Vaccines for preventing infection with *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database System Rev*. 1999;1:CD001399. DOI: 10.1002/14651858. CD001399. Update february-2006.
19. Doring G. Relevant issues in bacterial vaccine development for patients with cystic fibrosis [resumen]. *Pediatr Pulmonology*. 2003;Suppl 25:128-9.