



Coloquio internacional entre grupos de investigación microbiológica y bioquímica

Desarrollo preclínico de una vacuna de ADN contra la infección por *Klebsiella pneumoniae*.

Mireia López Siles^{1,2} , Marta Vicente Pazos², Clàudia Navarro Sánchez¹, Michael J McConnell²

¹Grupo de Microbiología de la Enfermedad Intestinal, Departamento de Biología, Universitat de Girona, Girona, España. ²Laboratorio de Infecciones Intrahospitalarias, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, España.

Correo del presentador: mireia.lopezs@udg.edu

Doi: <http://doi.org/10.5281/zenodo.7738222>

Fecha de publicación: 4 de marzo de 2023

Editado y revisado por: Abdelali Daddaoua (Pharmacy School, Granada University, Granada, Spain); bdelali Daddaoua (Pharmacy School, Granada University, Granada, Spain); Jesús Muñoz-Rojas (Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México).

CIMB8

Resumen

Introducción y objetivo. *Klebsiella pneumoniae* se encuentra entre los patógenos considerados de prioridad crítica por la OMS. Durante las últimas tres décadas se ha incrementado el número de



Ponencia

Coloquio internacional entre grupos de investigación microbiológica y bioquímica

infecciones causadas por esta especie y han aparecido cepas resistentes a múltiples antibióticos, lo que representa un importante problema clínico tanto a nivel hospitalario como comunitario. Debido a esta situación, el desarrollo de vacunas presenta un importante potencial para prevenir las infecciones causadas por este microorganismo y reducir la mortalidad y morbilidad asociadas a sus infecciones.

El objetivo de este estudio fue construir vacunas de ADN que expresan diferentes proteínas de *K. pneumoniae* en células eucariotas y evaluar su inmunogenicidad *in vivo*.

Material y métodos. Se realizó una búsqueda bibliográfica, análisis y selección de proteínas candidatas a antígenos vacunales frente a *K. pneumoniae*. Las proteínas seleccionadas fueron analizadas bioinformáticamente para determinar la similitud de secuencia entre *Klebsiella* sp., y predecir los epítomos reconocidos por linfocitos B y T mediante las plataformas Vaxijen 2.0 y ABCpred. La secuencia de estos antígenos fue adaptada para su expresión en células humanas y se fusionaron a elementos inmunoestimuladores. Los antígenos candidatos seleccionados se clonaron de forma independiente en la plataforma de ADN pVAX1 (Thermo Fisher Scientific). La expresión *in vitro* de antígenos se comprobó mediante transfección de células eucariotas HEK-293T y Western Blot. Los candidatos vacunales resultantes, así como sus controles negativos, correspondientes al plásmido sin secuencia antigénica, se inyectaron a ratones por vía intramuscular y se midieron los niveles de IgM, IgG total y subtipos de IgG (IgG1, IgG2a, IgG3) mediante ELISA. La tasa de supervivencia se estableció en un modelo de ratones con sepsis por *K. pneumoniae*.

Resultados. Se identificaron un total de 34 posibles proteínas candidatas, de las cuales 8 se ajustaron a los criterios de selección para ser buenos antígenos. Estos candidatos se clasificaron en 4 categorías: 1) porinas específicas (n=2), 2) sideróforos (n=3), 3)

Coloquio internacional entre grupos de investigación microbiológica y bioquímica

proteínas de membrana externa (n=2), y 4) fimbrias (n=1). Se detectó la expresión de dos antígenos (porinas y fimbrias) en la fracción celular y en el sobrenadante de células HEK-293T. Los niveles de anticuerpos obtenidos fueron más altos para la vacuna basada en porinas que para la vacuna de subunidad fimbral. Los anticuerpos de IgG generados por ambas vacunas incluyeron IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3. Los ratones inmunizados exhibieron un predominio de IgG1 sobre IgG2a, lo que indica una respuesta principalmente de tipo humoral. Sin embargo, la mejor tasa de supervivencia se logró para la vacuna basada en fimbrias.

Conclusión. Este es el primer estudio que establece la inmunogenicidad de una vacuna de ADN basada en subunidades fimbriales contra infecciones por *K. pneumoniae*. Además, se observó que los niveles altos de inmunoglobulina no necesariamente se correlacionan con una mayor tasa de supervivencia después de la infección. El candidato vacunal desarrollado representa una estrategia prometedora para su aplicación profiláctica frente infecciones causadas por *K. pneumoniae*.

Palabras clave: *Klebsiella pneumoniae*; resistencia a antibióticos; vacunas de ADN; inmunogenicidad; subunidades fimbriales.

<https://sites.google.com/view/apcmac/congresos-y-reuniones-cient%C3%ADficas/congresos-y-reuniones-2023/encuentro-entre-grupos-de-investigaci%C3%B3n-microbiol%C3%B3gica/memorias-del-coloquio-internacional-entre-grupos/l%C3%B3pez-siles-2023>