

# VACUNAS CON VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA: ¿EL FUTURO DE LAS VACUNAS?

## OUTER MEMBRANE VESICLE VACCINES: THE FUTURE OF VACCINES?

Pablo Díaz-Hernández

Facultad de Ciencias Biológicas, Edificio Multilaboratorios 6, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Avenida San Claudio s/n, Ciudad Universitaria, La Hacienda, 72592 Puebla, Puebla, México.

202065692@viep.com.mx

## Abstract

Preventing the spread of disease, whether by viral or bacterial pathogens, involves protecting billions of people and subsequent factors in the process. Vaccination is undoubtedly the most effective way to achieve this. Many countries prioritize vaccination campaigns for the public health well-being of their inhabitants. Vaccine development has been based on 4 main types, whose response is effective for many diseases; however, some of them have shown to have limitations for certain clinical conditions. Therefore, the identification of new candidates for vaccine development has attracted the attention of many research groups. According to the humoral and cellular immune response induced by a vaccine, its effectiveness against a disease is measured. Microvesicles (MVs) are nanometer-sized vesicles that are secreted into the extracellular space, whose contents consist of carbohydrates, proteins, lipids, nucleic acids (DNA and RNA) and other metabolites. This conformation can be used as a vehicle to transport antigens and immunogenic molecules directly to target cells. A vaccine for the multidrug-resistant bacterium *Neisseria gonorrhoeae* has already been developed using outer membrane vesicles (OMVs), whose immune response was promising. In this review, we will study the participation of microvesicles secreted by Gram-positive and Gram-negative bacteria of different isolates, the pathogenicity processes in which they participate, their usefulness in the transport of immunogenic molecules and their effectiveness as vaccine components against multidrug-resistant bacteria.

**Keywords:** Vaccines; Multidrug-resistant bacterias; Microvesicle secretion; Immune response; Extracellular membrane.

## Resumen

Prevenir la propagación de una enfermedad, sea por patógenos virales o bacterianos, implica brindar protección a miles de millones de personas y los factores subsecuentes durante el proceso. La vacunación, es sin duda, la manera más efectiva de lograr esto. Muchos países priorizan la realización de campañas de vacunación procurando el bienestar en salud pública de sus habitantes. El desarrollo de vacunas se ha situado en 6 tipos principales, cuya respuesta es efectiva para muchas enfermedades, sin embargo, algunas demostraron tener limitantes para determinadas condiciones clínicas. Por ello, la identificación de nuevos candidatos para desarrollar vacunas ha captado la atención de muchos grupos de investigación. De acuerdo con la respuesta inmune humoral y celular inducida por una vacuna, es que se mide su efectividad contra una enfermedad. Las Microvesículas (MVs) son vesículas de tamaño nanométrico que se secretan al espacio extracelular, cuyo contenido se conforma de carbohidratos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos (ADN y ARN) y otros metabolitos. Dicha conformación puede utilizarse como un vehículo que transporte para antígenos y moléculas inmunogénicas directamente a las células diana. Ya se ha desarrollado una vacuna para la bacteria multirresistente *Neisseria gonorrhoeae* utilizando vesículas de membrana externa (OMVs), cuya respuesta inmune fue prometedora. En esta revisión, se estudiará la participación de las microvesículas secretadas por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas de distintos aislados, procesos de patogenicidad en los que participan, utilidad en el transporte de moléculas inmunogénicas y su efectividad como componentes vacunales contra bacterias multirresistentes.

**Palabras clave:** Vacunas; Bacterias multirresistentes; Secreción de microvesículas; Respuesta inmune; Membrana extracelular.

## 1.- Introducción

La naturaleza evolutiva de las células ha permitido el desarrollo de diversos organelos con funciones determinadas. Sean células eucariotas o procariotas, ambas intervienen en muchos procesos, reacciones, funciones, etc., a su vez, esto es motivo para indagar cuál de estas funciones podemos aprovechar, en beneficio de la salud humana, por ejemplo.

El transporte en células eucariotas involucra orgánulos como el Aparato de Golgi y el retículo Endoplásmico (Paniagua et al, 2007). El transporte que moléculas grandes (macromoléculas) como ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, histonas, etc., requiere de mecanismos distintos a los utilizados por moléculas más pequeñas. La vesiculación (endocitosis) se describe como un mecanismo que engloba el Cargo dentro de una membrana formada a partir de la membrana plasmática que transporta distintas macromoléculas a través del citoplasma donde se unen a otras vesículas y reparte su contenido. Existe otro tipo de transporte que funciona a través de la segregación de estas moléculas al citosol, se denomina exocitosis (Paniagua et al, 2007). Por otro lado, en células procariotas, como en las bacterias, el transporte de moléculas se regula por la membrana citoplasmática. El tamaño y peso de la molécula define la vía para ingresar o egresar de la célula; moléculas con pesos <100 Daltons (Da) atraviesan de manera pasiva la membrana, sin embargo, aquellas de mayor peso o que poseen carga eléctrica requieren de proteínas transportadoras (Paniagua et al, 2007).

Dadas las características de estos transportes en las células, se les ha perfilado como de utilidad para efectuar sus funciones en otros procesos. Las células eucariotas y procariotas utilizan vesículas extracelulares (VEs) como mediadores de la comunicación intercelular, estas vesículas se forman a partir de la membrana externa de manera espontánea (Jahromi & Fuhrman, 2021). Las vesículas de membrana externa (OMVs, por sus siglas en inglés) describen características similares en cuanto a funciones y procesos en los que intervienen. Su potencial aprovechamiento como vehículos de transporte ya es motivo de aplicaciones nanotecnológicas y biotecnológicas que se discutirán más adelante (Jahromi & Fuhrman, 2021).

## 2.- Microvesículas (MVs)

El término Microvesículas (MVs) es diferente hablando de organismos eucariotas y procariotas. En organismos eucariotas se producen dos tipos de MVs; los exosomas, identificados como un subtipo de VEs que se forman a través de una ruta endosomal y que tienen un diámetro de entre 50-100 nm. Por otro lado, existen también los ectosomas, que son VEs de tamaño nanométrico (100-500 nm de diámetro) liberadas por las células al entorno intercelular (Shkair et al., 2021; Milani et al., 2017; Meldolesi J., 2018). Sin embargo, en procariotas, bacterias en específico, el término más utilizado para referirse a las MVs es OMVs (González-Vázquez et al., 2022; Kim et al., 2015). Aunque tanto Gram-positivas como Gram-negativas secretan OMVs, el término es más utilizado para referirse y describir a Gram-negativas.

### 2.1 VEBs y OMVs

Las VEs son partículas lipídicas nanométricas liberadas por prácticamente todas las células vivas (Zou et al., 2022; Jan A. T., 2017). De acuerdo con Jahromi y Fuhrmann, bacterias Gram-positivas como Gram-negativas secretan VEBs al espacio extracelular en composiciones y contenido similar, no obstante, los mecanismos de biogénesis para las VEBs en ambos tipos bacterianos son diferentes. Las OMVs son vesículas esféricas que suelen tener un diámetro de entre 100-300 nm (Jahromi & Fuhrman, 2021). Las OMV se secretan de la membrana externa y, por tanto, están formadas por una única bicapa de membrana (Toyofuku et al., 2019).

## 3.- Vesículas de Membrana Externa (OMVs)

Estudios nanotecnológicos respaldan la utilidad de las OMVs como un método para la administración de fármacos al cuerpo humano, cuyas características favorecen liberación controlada del fármaco en la ubicación deseada y el estímulo que puede generar a través de este método, apuntando a que en un futuro podrían ser potenciales dianas terapéuticas que traten determinadas enfermedades (Jahromi & Fuhrman, 2021). De manera similar, las VEs se estudian como vehículo de administración de vacunas que podrían mejorar la retención del antígeno en el lugar de la inyección, facilitar la administración a las células inmunitarias y

umentar la inmunogenicidad general (Shkair et al., 2021). En 2017, Gao et al., reportaron que las VEs provenientes de neutrófilos pueden transportar agentes terapéuticos, utilizando Piceatanol para inhibir la inflamación del endotelio pulmonar (Gao et al., 2017).

Bajo el contexto previo sobre su potencial uso, otros autores centraron su atención en las vesículas secretadas de bacterias. Las OMVs poseen una capacidad similar a la mediación de la comunicación intercelular, pero con células inmunes innatas, células adaptativas y células presentadoras de antígenos donde inducen respuestas inmunes protectoras (Shkair et al., 2021). Jahromi y Fuhrmann mencionan que las OMVs desempeñan un papel esencial en la fisiología y la patogénesis de las células procariotas al servir como mecanismo de desintoxicación, vehículo para la transferencia horizontal de genes, transportador de factores de virulencia y mensajero de comunicación célula-célula (Jahromi & Fuhrman, 2021).

### 3.1 Cargo característico de las OMVs

Aunque el Cargo está presente en las OMVs de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, esta revisión se enfocará principalmente en las Gram-negativas y, abordará de manera general el de las Gram-positivas. El Cargo se refiere al contenido que las OMVs portan en su interior y que transportan a través del espacio extracelular (González-Vázquez et al., 2022). El cargo en la OMVs de bacterias Gram-negativas se constituye de ácidos nucleicos, algunos carbohidratos, lípidos, proteínas, componentes del citosol y del periplasma (Jahromi & Fuhrman, 2021), como se ilustra en la Figura 1.

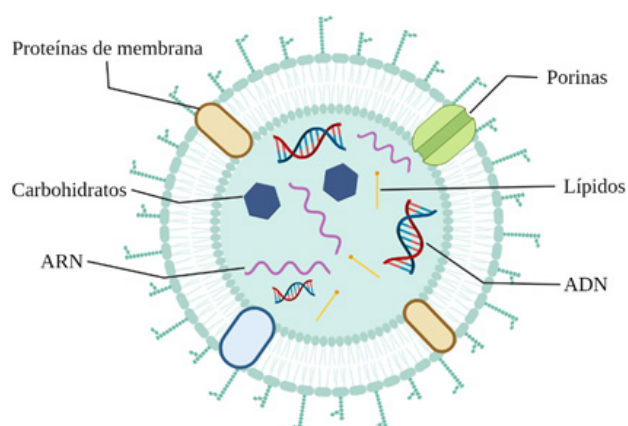


Figura 1. Esquema de la OMV de una bacteria Gram-negativa. Al interior de la doble capa lipídica se observa el cargo que porta, así como las proteínas por las muchas de estas moléculas ingresan o egresan de la vesícula. Elaboración propia con BioRender.com

Hay poca información sobre las OMVs secretadas por bacterias Gram-positivas. Desde su descubrimiento en 1990, se argumentaba que debido a la existencia de una gruesa pared celular de peptidoglicano y a la falta de espacio periplásmico y de membrana externa en la pared celular, era difícil para la bacteria secretar las OMVs, no obstante, Zou et al., reportan que son VEBs, en su mayoría, las secretadas por este tipo bacteriano (Zou et al. (2022). Diferente de esto, las OMVs secretadas por las bacterias Gram-negativas están muy bien estudiadas en varios géneros y especies bacterianas. Otro tipo de OMVs son las O-IMV (Outer-Inner Membrane Vesicles, por sus siglas en inglés). Este tipo contiene tanto membranas externas como membranas citoplasmáticas y pueden generarse por lisis celular explosiva (Zou et al. 2022; Toyofuku et al., 2019).

### 4.- Bacterias secretoras de OMVs

Existe una gran cantidad de especies bacterianas secretoras de OMVs. Derivado de esto, les ha valido el estudio de sus mecanismos de patogénesis y capacidad para transferir factores de virulencia (Jahromi & Fuhrmann, 2021). Las bacterias patogénicas utilizan sus OMVs para transferir factores de virulencia, como enzimas, ADN y pequeños ARN, a las células del huésped. De acuerdo con Jahromi y Fuhrmann, las OMVs funcionan como un mecanismo de patogénesis subyacente de bacterias patógenas que, puede variar en función de la bacteria de la que preceden, afectando a células epiteliales, endoteliales, células inmunes, pla-

quetas, fibroblastos, osteoblastos y células sinoviales en su mayoría (Jahromi & Fuhrmann, 2021), lo que induce respuestas inflamatorias.

La Tabla 1 plantea un panorama más completo sobre las especies bacterianas que secretan OMVs y su contenido, además de algunos factores de virulencia y los procesos de patogeni- cida en los que participan.

Especie bacteriana	Factores de virulencia	Referencia
<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) [ <i>E. coli</i> enterotoxigénica, <i>E. coli</i> productora de toxina Shiga, <i>E. coli</i> enterohemorrágica]	Enterotoxina termolábil Toxina Shiga Citolisina A (ClyA) LPS	(Jan, A. T., 2017, Jahromi & Fuhrman, 2021)
<i>Helicobacter pylori</i>	Toxina vacuolizante Proteínas ricas en cisteína de <i>Helicobacter</i>	Jan, A. T. (2017)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fosfolipasa C proteasa Fosfatasa alcalina Hidrolasas Hemolisina Aminopeptidasa de <i>P. aeruginosa</i>	Jan, A. T. (2017)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Proteínas de superficie externa (PSE-A, PSE-B, PSE-D)	Jan, A. T. (2017)
<i>Shigella flexneri</i>	Antígenos plasmídicos de invasión (Apl-B, Apl-C, Apl-D)	Jan, A. T. (2017)
<i>Shigella dysenteriae</i>	Toxina Shiga	Jan, A. T. (2017)
<i>Salmonella typhi</i>	Proteína de membrana externa C (PME-C)	Jan, A. T. (2017)
<i>Salmonella enterica serotipo typhi</i> y paratyphi A	ClyA	(Jan, A. T., 2017, Jahromi & Fuhrman, 2021)
<i>Treponema denticola</i>	Proteasas Dentilicina	Jan, A. T. (2017)
<i>Neisseria meningitidis</i>	Proteína NarE, NipB, PorA	Jan, A. T. (2017)
<i>Bordetella pertussis</i>	Toxina de la tos ferina Hemolisina del adenilato ciclasa	Jan, A. T. (2017)
<i>Burkholderia cepacia</i>	Fosfolipasas-N Hemaglutinina	(Jan, A. T., 2017, Kim et al., 2020)
<i>Vibrio cholera</i>	LPS	Jan, A. T. (2017)
<i>Xanthomonas campestris</i>	Proteínas de secreción de tipo 3 Celulasa Xilosa	Jan, A. T. (2017)
<i>Legionella pneumophila</i>	Fosfatasa ácida Proteasa Quitinasa	Jan, A. T. (2017)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Proteína de superficie ubica (PSU-A1, PSU-A2)	Jan, A. T. (2017)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Proteínas de las OMVs Patrones moleculares asociados a antígenos (LPS, flagelina) Proteasas Fosfolipasas Catalasas	(Jan, A. T., 2017, Jahromi & Fuhrman, 2021)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Enzimas que degradan tejidos	Jan, A. T. (2017)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Proteína distensora citoletal	Jan, A. T. (2017)
<i>Yersinia pestis</i>	Proteínas gingipainas (Pg-A, Pg-B) Adhesina Ail Proteasa Pla	Jan, A. T. (2017)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Antígeno fibrilar externo F1 Proteína de <i>S. aureus</i> A	(Jan, A. T., 2017, Jahromi & Fuhrman, 2021)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	PME-A LPS	(Jan, A. T., 2017, Jahromi & Fuhrman, 2021)

Modificado de Jan, A. T. (2017).

## 5.- Vacunas: Panorama actual

Según datos de la Organización Mundial de la Salud, la reciente pandemia por SARS-CoV-2 habría tenido un saldo de 14.9 millones de decesos registrados del 1 de enero de 2020 al 31 de diciembre de 2021 (United Nations, s. f.). Así mismo, la pandemia demostró el nivel de confianza de la población en general sobre las vacunas y que tanto están dispuestas a usarlas en beneficio de su salud (González-Melado & Di Pietro, 2020). Reconocer la utilidad que una vacuna tiene en la salud pública es necesario para que en futuras contingencias sanitarias la

respuesta de la población sea positiva, en su mayoría. La Tabla 2 describe los 6 tipos de vacunas que actualmente se utilizan para tratar enfermedades.

Tabla 2. Tipos de vacunas actualmente utilizadas.

Tipo de vacuna	Fundamento	Ejemplos	Referencia
Vacunas VA	Vacunas diseñadas a base de cepas patógenas vivas pero debilitadas capaces de inducir una fuerte respuesta inmune y generar memoria celular. No siempre requieren de dosis adicionales o refuerzos.	Vacuna contra el sarampión, las paperas y la rubéola (triple vírica) Vacuna contra la varicela	(Pfizer, s. f.)
Vacunas IV	Utilizan un patógeno y lo matan o inactivan, de este modo, al administrarse la vacuna al paciente, el patógeno es suficientemente fuerte para inducir una respuesta inmune pero incapaz de causar la enfermedad. Generan inmunidad, pero, por lo general, requieren de dosis adicionales.	Vacuna contra la polio Vacuna contra la influenza	(Pfizer, s. f.)
Vacunas de Sb	No utilizan el patógeno completo, sino fragmentos del este, capaces de inducir una respuesta inmune en personas que no reciben vacunas VA, como niños, recién nacidos, ancianos y personas inmunodeprimidas	Vacuna contra <i>H. influenzae</i> tipo B Vacuna neumocócica (polisacárida o conjugada) Vacuna contra el herpes zóster (proteína recombinante) Vacuna contra la hepatitis B (proteína recombinante) Vacuna contra la tos ferina acelular Vacuna contra MenACWY (conjugada)	(Pfizer, s. f.)
Vacunas Tx	Utilizan toxinas inactivadas que atacan la actividad tóxica provocada por una bacteria en lugar de atacar a la propia bacteria.	Vacuna contra el tétanos Vacuna contra la difteria	(Pfizer, s. f.)
Vacunas de VVs	Descrito como un sistema administrador de genes, este tipo de vacuna utiliza virus inofensivos que transportan el código genético a las células leucarias del huésped para generar una respuesta inmune.	Vacuna contra el ébola Vacuna contra COVID-19 (AstraZeneca y Johnson & Johnson)	(Pfizer, s. f.)
Vacunas de mRNA	Se introduce un fragmento de mRNA el cual enseña a las células a fabricar proteínas Spike que provocarán una respuesta inmune generando ACs y memoria celular, así, al exponerse al patógeno, el organismo estará preparado para combatirlo.	Vacuna contra COVID-19 (Pfizer/BioNTech)	(Pfizer, s. f.)

**Abreviaturas:** Vacunas Vivo-Atenuadas (VA), Vacunas Inactivadas (IV), Vacunas de Subunidades (Sb), Vacunas Toxoides (Tx), Vacunas de Vectores Virales (VVs), Vacunas de mRNA (Ácido Ribonucleico mensajero), Anticuerpo (ACs), Vacuna Meningocócica conjugada contra serogrupos A, C, W y Y (MenACWY).

Aunque el panorama es prometedor, lo cierto es que las infecciones virales y bacterianas continúan causando enfermedades a poblaciones significativas, de este modo, la investigación pretende prevenir este escenario que, podría ser catastrófico. Recalcando la importancia y utilidad de las OMVs ante un escenario amenazado por la resistencia que desarrollan algunas bacterias, enfermedades emergentes y diferentes problemas de salud que atentan contra la integridad del ser humano, muchos autores han planteado métodos que proponen a las OMVs en el Diseño y Desarrollo de Candidatos Vacunales, una de las fases del proceso para crear una vacuna. Por lo general, desarrollar una vacuna efectiva y segura tarda, al menos, una década en estar disponible para la población, como lo ilustra la Figura 2.



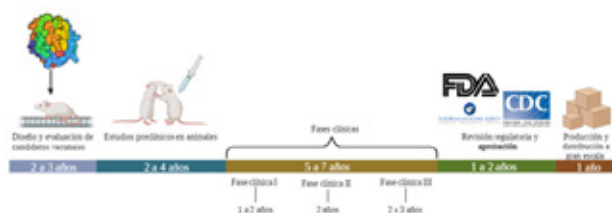


Figura 2. Desarrollo tradicional de una vacuna. Los años plasmados por en cada barra de color son promedios que varían en función de la tecnología utilizada y la respuesta del patógeno en el huésped. Adaptado de Krammer (2020).

Hoy, las vacunas de mRNA utilizan tecnologías novedosas que permiten desarrollar una vacuna eficaz en plazos de tiempo muy cortos (Pfizer, s. f.). El ejemplo más reciente fue la vacuna para la COVID-19 desarrollada por Pfizer y BioNtech; efectuaron todas las fases y estudios anteriormente mencionados en paralelo y, 10 meses después, la primera vacuna contra COVID-19 altamente eficaz y segura salió al mercado.

### 5.1 Vacunas y OMVs

Otra característica de las OMVs secretadas de bacterias Gram-negativas es la capacidad de neutralizar a otros microbios que invaden el ambiente que ellas habitan. Dada su capacidad de transferencia y transporte, la secreción de OMVs actúa como un mecanismo que disemina factores de virulencia perjudiciales causando una infección bacteriana en el hospedero, a su vez, estos factores también pueden matar microbios e incluso a otras bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Estas bacterias poseen un conjunto de enzimas bacteriolíticas que le brindan la capacidad de distinguir entre sus propias células y otras células (Furuyama & Sircili, 2021).

Bajo el contexto previo, ahora sabemos que las OMVs pueden efectuar mecanismos de defensa y ofensa según las condiciones a las que se someta la bacteria y, aunque pareciera que esto es perjudicial, podemos aprovechar estos mecanismos de defensa en favor de la salud humana. Las OMVs se consideran como un novedoso sistema delivery de diferentes sustancias, previamente hemos hablado de su utilidad transportando agentes terapéuticos y, como es de esperarse, este sistema delivery protege el cargo de factores físicos y bioquímicos estresantes mientras lo transporta (Furuyama & Sircili, 2021).

Una de las razones por las cuales cada vez menos antibióticos son útiles para tratar infecciones bacterianas, es que al entrar en el cuerpo y dirigirse a la célula diana, es muy complicado penetrar las paredes celulares del patógeno, así mismo, esto disminuye la actividad del fármaco (Furuyama & Sircili, 2021). Contrario a una desventaja, estas complicaciones resultan benéficas para transportar agentes naturales que, al llegar a la célula diana, fácilmente podrán ser englobados por la célula eucariota hospedera y liberar dentro de la célula el agente activo (Furuyama & Sircili, 2021; González-Vázquez et al., 2022). Descrito como un novedoso mecanismo de secreción enzimática, Kadurugamuwa y Beveridge demostraron que *Pseudomonas aeruginosa* secreta, por sí sola, OMVs normales, no obstante, al tratar a esta misma bacteria con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Gentamicina, *P. aeruginosa* comenzó a secretar OMVs de gentamicina (g-OMVs) (Kadurugamuwa & Beveridge, 1995; Furuyama & Sircili, 2021; Durham A. E., 2018). Bajo esta premisa, las g-OMVs fueron capaces de matar cultivos patógenos e incluso, una cepa patógena de *P. aeruginosa* resistente a gentamicina [18], esto se atribuye a que las g-OMVs lograron atravesar la pared celular a través de la hidrólisis de la capa de peptidoglicano en un sitio específico, efectuada por la autolisina, y liberaron el antibiótico directamente en el periplasma bacteriano (Kadurugamuwa & Beveridge, 1995; Durham A. E., 2018; Preado J. V., 2001). *E. coli* también ha sido investigada como posible especie secretora de OMVs con capacidades prometedoras en el desarrollo de vacunas. En un trabajo publicado en 2016, Gao et al., utilizaron las OMVs secretadas por *E. coli* para recubrir nanopartículas de oro de 30 nm de diámetro para comparar su efectividad contra las OMVs como una estrategia terapéutica para el desarrollo de vacunas antibacterianas. A partir de esto, la administración vía subcutánea de las nanopartículas de oro recubiertas con OMVs (nP Au-OMVs) indujeron producciones elevadas de interferón- $\gamma$  e interleucina 17, pero no para la interleucina 4, significando respuestas celulares parcialmente efectivas, no obstante, su estabilidad como solución tampón biológica fue mayor, además, provocaron una rápida activación y maduración de las células dendríticas en los ganglios linfáticos de ratones vacunados (Gao et al, 2015), induciendo respuestas inmunes mucho más fuertes y duraderas (Gao et al, 2015; Furuyama & Sircili, 2021).

### 5.1.1 Vesículas de Membrana Externa Atenuadas

El cargo en una OMVs varía mucho entre cada especie bacteriana, especialmente los factores de virulencia que utilizan para infectar a las células del huésped, por ello, es necesario eliminar esos factores y/o atenuarlos para utilizar las OMVs como vehículos transportadores de agentes vacunales. En un trabajo de Takada K. et al., se reportó que la unión de la lisozima (LZ) con los lipopolisacáridos (LPS) de la bicapa podía inhibir diversas actividades inmunomoduladores del LPS, anulando la producción de ciertos factores de virulencia (Takada et al., 1994; Chen et al., 2022). De este modo, se puede utilizar el complejo LZ-LPS para eliminar los factores de virulencia en las OMVs a través de incubación a 56°C por 20 minutos (Takada et al., 1994), no obstante, este método no es del todo eficaz ya que durante este proceso se pueden perder las lipoproteínas y otras composiciones de las cuales dependen las propiedades coadyuvantes de las OMVs (Chen et al., 2022; Takada et al., 1994).

Atender enfermedades cuyas tasas de infección han incrementado se ha vuelto una prioridad, según datos del Centro para Prevención y Control de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), desde 2014 a 2020, las infecciones gonocócicas han incrementado su incidencia en un 63%, esto ya significa una amenaza si consideramos que estas infecciones derivan a otras enfermedades como secuelas, como la enfermedad inflamatoria pélvica, el embarazo ectópico y la infertilidad (St. Cyr et al., 2020). En vista de este escenario, Matthias K. et al., estudiaron la respuesta de una vacuna elaborada como vesículas de membrana externa atenuadas (a-OMVs) contra *Neisseria meningitidis* (Nm) durante campañas de vacunación en Cuba, Noruega y Nueva Zelanda (Matthias et al., 2022). Azee reportó los resultados de una que obtuvo la vacuna VA-MENGO-BC en Cuba; durante una campaña masiva de vacunación para controlar la epidemia meningocócica durante 1989 a 1990, dirigida a la población de alto riesgo de 3 meses a 24 años, se encontró que la vacuna VA-MENGO-BC disminuyó la incidencia de esta enfermedad, además, Azee concluyó que podría inducir una protección moderada contra la gonorrea (Azze R. F. O., 2019). Bajo un panorama positivo, Whelan et al., plantearon un modelo de estudio ecológico que pretendía analizar la efectividad de

los componentes de algunas vacunas contra meningococo B (MenB) contra *Neisseria gonorrhoeae* (Ng) durante campañas de vacunación en Noruega, pues Nm y Ng comparten el mismo género *Neisseria* y algunos antígenos proteicos como las OMVs. Los resultados se vieron afectados por limitantes como el uso de preservativos y efectos conductuales en la actividad sexual de la población de estudio, lo cual, no permitió distinguir si hubo un efecto positivo por parte de la vacuna y, aunque las tasas de gonorrea en hombres y mujeres descendieron tras la campaña de vacunación, no se esclareció en su totalidad la efectividad de la vacuna (Whelan et al., 2016); Azze R. F. O., 2019). Estudios retrospectivos efectuados por Petousis-Harris et al. evaluaron la respuesta de la vacuna contra meningococo B en Nueva Zelanda (MenBNZ), durante una campaña de vacunación entre 2004 y 2006 en adultos jóvenes de 15 a 30 años diagnosticados con gonorrea, clamidia o ambas. Resumiendo, los estudios primarios utilizaron a una población diagnosticada con Ng a partir de muestras clínicas de laboratorio, se eligieron individuos infectados únicamente con clamidia como control, estimando los Odds ratios (OR, por sus siglas en inglés) de los individuos vacunados contra los no vacunados. Con los resultados, se concluyó que la exposición a la vacuna MenBZN se asociaba a la disminución considerable en las tasas de diagnóstico de gonorrea, en otras palabras, por primera vez se demostró que la vacuna ofrece algún tipo de protección contra la gonorrea además de que esos resultados podrían ser la base para desarrollar una vacuna contra el meningococo (Petousis-Harris et al., 2017). Dichos estudios respaldan la posibilidad de que la vacunación con a-OMVs diseñadas a partir de Nm haya presentado una reducción estimada del 59% en la tasa de incidencia por Ng (Longtin et al., 2017; Matthias et al., 2022). Leduc I. et al., realizaron la inmunización parenteral con la vacuna 4CMenB (Bexsero) en un modelo de infección murino hembra, probando directamente la hipótesis de que las OMVs secretadas por Nm inducían una protección cruzada contra la gonorrea además de que reducía la carga bacteriana de Ng en el modelo de infección (Leduc et al., 2020; European Medicines Agency, 2018).

## 6.- OMVs como agentes vacunales contra bacterias multirresistentes

Alexander Fleming marcó uno de los hitos más importantes en la historia de la medicina, el descubrimiento de la Penicilina, gracias a esto, descubrimientos subsecuentes de otros antibióticos pudieron atender a infecciones que, en otras circunstancias, hubieran significado millones de muertes. En 2009, la producción de antibióticos ascendía a las 100,000 toneladas anuales (Nikaido H., 2009), sin embargo, la resistencia que han desarrollado ciertas bacterias ha ocasionado que cada vez menos antibiótico sean eficaces para tratar infecciones en personas. Se le denomina Multirresistente a este procarionta cuando una sola bacteria resiste el tratamiento con más de un antibiótico. De acuerdo con Nikaido H. et al., el desarrollo de esta resistencia puede ocurrir a través de dos mecanismos; el primero refiere a la acumulación de genes, cada uno codificante a la resistencia de un único fármaco, en un mismo plásmido de resistencia. El segundo mecanismo de resistencia se produce por una sobreexpresión de genes que codifican bombas de eflujo – proteínas transportadoras de membrana – para múltiples genes, imposibilitando el uso de una amplia gama de fármacos (Nikaido H., 2009; Marchetti et al., 2011).

La cepa *Staphylococcus aureus* (Sa) resistente a la Meticilina (SaRM) – fármaco desarrollado para combatir a las cepas de Sa productoras de penicilinasas – ha desarrollado resistencia a los aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclina, cloranfenicol y lincosamidas, además, esta misma cepa es responsable de infecciones hospitalarias (Nikaido H., 2009). Si bien son casos inusuales, se ha reportado la transferencia de resistencia entre cepas del género *Enterococcus* al ser tratados con Vancomicina, un fármaco diseñado para tratar a SaRM. El linezolid y la quinupristina/dalfopristina son agentes de reciente desarrollo que planean combatir a la cepa SaRM resistente a Vancomicina. Del mismo modo, se ha reportado la reciente llegada de las cepas “pan-resistentes” Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, lo cual es de preocupación para la salud pública (Nikaido H., 2009).

## 7.- Conclusiones

Posicionar a las OMVs como candidatos vacunales prometedores en el desarrollo de vacunas significa comprender en su totalidad, la naturaleza de su biogénesis, cargo característico de cada especie y/o género bacteriano y la interacción microorganismo-hospedero. La evidencia surgida de los estudios citados en esta revisión respalda su utilidad como candidatos vacunales, no obstante, aún hay dianas de investigación que podrían complementar las características de las OMVs y comprender procesos de los que aún no se tiene suficiente información.



### **Declaración de privacidad**

Los datos personales facilitados por los autores a RD-ICUAP se usarán exclusivamente para los fines declarados por la misma, no estando disponibles para ningún otro propósito ni proporcionados a terceros.

### **Declaración de no Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existe conflicto de interés alguno.

### **Agradecimientos**

Este trabajo, en general, ha significado un beneficio para mi persona y un mérito como estudiante, ya que me ha acercado un poco más al mundo de la investigación, que no solo basta con revisar una fuente de información, o consultar a un solo autor, la investigación científica no para de descubrir, de innovar y de reportar. Quiero agradecer a la Dra. María Cristina González por la atención brindada y por la oportunidad de desarrollar un trabajo bajo su asesoramiento, a la PhDs. Beatriz Aquino por el curso de Ecotoxicología y por la oportunidad de poder publicar en la revista RD-ICUAP, a mi hermano Alejandro Díaz apoyarme en el proceso e instruirme sobre las oportunidades de trabajo y, a mis padres, a quienes agradezco infinitamente el apoyo brindado en mi desarrollo profesional, finalmente, mencionar a mis amigos, colegas y compañeros que estuvieron ahí.

## Referencias bibliográficas

Azze, R. F. O. (2019). A meningococcal B vaccine induces cross-protection against gonorrhoea. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 8(2), 110–115. <https://doi.org/10.7774/cevr.2019.8.2.110>

Bomberger, J. M., Maceachran, D. P., Coutermarsh, B. A., Ye, S., O'Toole, G. A., & Stanton, B. A. (2009). Long-distance delivery of bacterial virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane vesicles. *PLoS pathogens*, 5(4), e1000382. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000382>

Chen, H., Zhou, M., Zeng, Y., Lv, Z., Wang, P., & Han, L. (2022, June 16). Recent advances in biomedical applications of bacterial outer membrane vesicles. *Journal of Materials Chemistry B. Royal Society of Chemistry*. <https://doi.org/10.1039/d2tb00683a>

Durham A. E. (2018). An evaluation of serum gentamicin concentrations and bacterial susceptibility to gentamicin in equine practice. *Journal of veterinary internal medicine*, 32(3), 1194–1201. <https://doi.org/10.1111/jvim.15078>

Elsevier. (s. f.). Células eucariotas y procariotas: ¿Sabrías distinguirlas? Te damos las claves. Elsevier Connect. <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/celulas-eucariotas-y-procariotas-sabrias-distinguirlas-te-damos-las-claves#:~:text=Las%20oc%C3%A9lulas%20de%20los%20animales,griego%20%C2%ABn%C3%BAcleo%20primitivo%C2%BB>

European Medicines Agency. (2018). Bexsero (vacuna antimeningocócica del grupo B [ADNr, componente, adsorbida]). European Medicines Agency. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/bexsero-epar-summary-public\\_es.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/bexsero-epar-summary-public_es.pdf)

Furuyama, N., & Sircili, M. P. (2021). Outer membrane vesicles (OMVs) produced by gram-negative bacteria: Structure, functions, biogenesis, and vaccine application. *BioMed Research International*. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/1490732>

Gao, J., Wang, S., & Wang, Z. (2017). High yield, scalable and remotely drug-loaded neutrophil-derived extracellular vesicles (EVs) for anti-inflammation therapy. *Biomaterials*, 135, 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.05.003>

Gao, W., Fang, R. H., Thamphiwatana, S., Luk, B. T., Li, J., Angsantikul, P., ... Zhang, L. (2015). Modulating antibacterial immunity via bacterial membrane-coated nanoparticles. *Nano Letters*, 15(2), 1403–1409. <https://doi.org/10.1021/nl504798g>

González-Melado, F. J., & Di Pietro, M. L. (2020). The vaccine against COVID-19 and institutional trust. La vacuna frente a la COVID-19 y la confianza institucional. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)*, 39(10), 510–515. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.08.001>

González-Vázquez, María Cristina, Guerra-Martínez, Álvaro Asaf, Escobedo-Herrera, Betsabé, & Carabarin Lima, Alejandro. (2022). Microvesículas bacterianas secretadas y su potencial uso en el desarrollo de vacunas. *Alianzas y tendencias BUAP*, 7(28), 47–74. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7425479>

Huang, W., Zhang, Q., Li, W., Chen, Y., Shu, C., Li, Q., ... Ma, Y. (2019). Anti-outer membrane vesicle antibodies increase antibiotic sensitivity of pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 10(JUN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01379>

Jahromi, L. P., & Fuhrmann, G. (2021, June 1). Bacterial extracellular vesicles: Understanding biology promotes applications as nanopharmaceuticals. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.03.012>

Jan, A. T. (2017). Outer Membrane Vesicles (OMVs) of gram-negative bacteria: A perspective update. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01053>

Kadurugamuwa, J. L., & Beveridge, T. J. (1995). Virulence factors are released from *Pseudomonas aeruginosa* in association with membrane vesicles during normal growth and exposure to gentamicin: A novel mechanism of enzyme secretion. *Journal of Bacteriology*, 177(14), 3998–4008. <https://doi.org/10.1128/jb.177.14.3998-4008.1995>

Kim, J. H., Lee, J., Park, J., & Ghoo, Y. S. (2015, April 1). Gram-negative and Gram-positive bacterial extracellular vesicles. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.02.006>

Kim, S. Y., Kim, S. I., Yun, S. H., Shin, M., Lee, Y. C., & Lee, J. C. (2020). Proteins in outer membrane vesicles produced by *Burkholderia cepacia* are responsible for pro-inflammatory responses in epithelial cells. *Journal of Bacteriology and Virology*, 50(4), 227–234. <https://doi.org/10.4167/jbv.2020.50.4.227>

Klimentová, J., & Stulík, J. (2015). Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. *Microbiological Research*, 170, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.09.006>

Krammer, F. (2020, October 22). SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*. *Nature Research*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2798-3>

Leduc, I., Connolly, K. L., Begum, A., Underwood, K., Darnell, S., Shafer, W. M., Balthazar, J. T., MacIntyre, A. N., Sempowski, G. D., Duncan, J. A., Little, M. B., Rahman, N., Garges, E. C., & Jerse, A. E. (2020). The serogroup B meningococcal outer membrane vesicle-based vaccine 4CMenB induces cross-species protection against *Neisseria gonorrhoeae*. *PLoS pathogens*, 16(12), e1008602. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008602>

Longtin, J., Dion, R., Simard, M., Betala Belinga, J. F., Longtin, Y., Lefebvre, B., Labbé, A. C., Decuninck, G., & De Wals, P. (2017). Possible Impact of Wide-scale Vaccination Against Serogroup B *Neisseria Meningitidis* on Gonorrhea Incidence Rates in One Region of Quebec, Canada. *Open Forum Infectious Diseases*, 4(Suppl 1), S734–S735. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofx180.002>

Marchetti, M., Errecalde, J., & Mestorino, N. (2011). Dirección para correspondencia: Resistencia bacteriana a los antimicrobianos ocasionada por bombas de Eflujo. Impacto en la Multirresistencia. *AnAlectA Vet*, 40(312), 40–53.

Matthias, K. A., Connolly, K. L., Begum, A. A., Jerse, A. E., MacIntyre, A. N., Sempowski, G. D., & Bash, M. C. (2022). Meningococcal Detoxified Outer Membrane Vesicle Vaccines Enhance Gonococcal Clearance in a Murine Infection Model. In *Journal of Infectious Diseases* (Vol. 225, pp. 650–660). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab450>

Meldolesi J. (2018). Exosomes and Ectosomes in Intercellular Communication. *Current biology: CB*, 28(8), R435–R444. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.059>

Milani, G., Lana, T., Bresolin, S., Aveic, S., Pastò, A., Frasson, C., & Te Kronnie, G. (2017). Expression profiling of circulating microvesicles reveals intercellular transmission of oncogenic pathways. *Molecular Cancer Research*, 15(6), 683–695. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-16-0307>

Nikaido H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*, 78, 119–146. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923>

Paniagua R., Nistal M., Sesma P., Álvarez-Uría M., Fraile B., Anadón R. & Sáez F. J. (2007). *Biología Celular 3ra edición*. McGRAW-HILL - Interamericana de España, S. A. U. <http://librodigital.san-gregorio.edu.ec/librosusgp/18073.pdf>

Pérez-Cruz, C., Delgado, L., López-Iglesias, C., & Mercade, E. (2015). Outer-inner membrane vesicles naturally secreted by gram-negative pathogenic bacteria. *PLoS ONE*, 10(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116896>

Petousis-Harris, H., Paynter, J., Morgan, J., Saxton, P., McArdle, B., Goodyear-Smith, F., & Black, S. (2017). Effectiveness of a group B outer membrane vesicle meningococcal vaccine against gonorrhoea in New Zealand: a retrospective case-control study. *Lancet (London, England)*, 390(10102), 1603–1610. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31449-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31449-6)

Pfizer, (s. f.). Understanding Six Types of Vaccine Technologies. [https://www.pfizer.com/news/articles/understanding\\_six\\_types\\_of\\_vaccine\\_technologies](https://www.pfizer.com/news/articles/understanding_six_types_of_vaccine_technologies)

Preado J., V. (2001). Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*: Basic microbiological aspects. *Revista Chilena de Infectología*, 18. <https://doi.org/10.4067/so716-10182001000000002>

Rodríguez, H. (2022, 3 abril). En 2050 la resistencia a los antibióticos será responsable de 10 millones de muertes anuales. [www.nationalgeographic.com.es](http://www.nationalgeographic.com.es). [https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/2050-resistencia-a-antibioticos-sera-responsable-10-millones-muertes-anuales\\_18090](https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/2050-resistencia-a-antibioticos-sera-responsable-10-millones-muertes-anuales_18090)

Semchenko, E. A., & Seib, K. L. (2022, January 1). Outer membrane vesicle vaccines for *Neisseria gonorrhoeae*. *Nature Reviews Urology*. Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41585-021-00534-5>

Shkair, L., Garanina, E. E., Stott, R. J., Foster, T. L., Rizvanov, A. A., & Khaiboullina, S. F. (2021, February 1). Membrane microvesicles as potential vaccine candidates. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22031142>

St. Cyr, S., Barbee, L., Workowski, K. A., Bachmann, L. H., Pham, C., Schlanger, K., ... Thorpe, P. (2020). Update to CDC's Treatment Guidelines for Gonococcal Infection, 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(50), 1911–1916. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6950a6>

Takada, K., Ohno, N., & Yadomae, T. (1994). Binding of lysozyme to lipopolysaccharide suppresses tumor necrosis factor production in vivo. *Infection and immunity*, 62(4), 1171–1175. <https://doi.org/10.1128/iai.62.4.1171-1175.1994>

Toyofuku, M., Nomura, N., & Eberl, L. (2019, January 1). Types and origins of bacterial membrane vesicles. *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0112-2>

United Nations. (s. f.). Las muertes por COVID-19 sumarían 15 millones entre 2020 y 2021 | Naciones Unidas. <https://www.un.org/es/desa/las-muertes-por-covid-19-sumar%C3%ADan-15-millones-entre-2020-y-2021>

Wei, S., Jiao, D., & Xing, W. (2022). A rapid method for isolation of bacterial extracellular vesicles from culture media using epsilon-poly-L-lysine that enables immunological function research. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.930510>

Wei, S., Li, X., Wang, J., Wang, Y., Zhang, C., Dai, S., ... Shan, B. (2022). Outer Membrane Vesicles Secreted by *Helicobacter pylori* Transmitting Gastric Pathogenic Virulence Factors. *ACS Omega*, 7(1), 240–258. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c04549>

Whelan, J., Kløvstad, H., Haugen, I. L., Robert-Du Ry van Beest Holle, M., & Storsaeter, J. (2016, June 1). Ecologic study of meningococcal B vaccine and *Neisseria gonorrhoeae* infection, Norway. *Emerging Infectious Diseases*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://doi.org/10.3201/eid2206.151093>

Zou, C., Zhang, Y., Liu, H., Wu, Y., & Zhou, X. (2022, May 25). Extracellular Vesicles: Recent Insights Into the Interaction Between Host and Pathogenic Bacteria. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.840550>