



UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTADE DE MEDICINA E ODONTOLOXÍA

TRABALLO FIN DE GRAO EN MEDICINA

Eficacia de la vacuna

Francisella tularensis subsp. holarctica (Live vaccine Strain).

Revisión de una enfermedad emergente en España.

Vaccine efficacy *Francisella turalensis subsp holarctica* (Live vaccine strain).

Emergent disease review from Spain.

Eficacia da vacina *Francisella turalensis subsp.holarctica* (Live vaccine strain).

Revision dunha enfermidade emerxente en España.

AUTORA: Carolina Alcalá Blanco

TITOR: Carlos García Riestra

COTITORA: Laura Milian Gay

Departamento: Microbiología y Parasitología

Curso académico: 2020/2021

Convocatoria: Junio 2021

Índice

1.	Resumen	3
2.	Introducción.....	4
3.	Justificación	12
4.	Objetivos.....	12
5.	Material y métodos	13
6.	Resultados.....	14
7.	Discusión	17
8.	Conclusiones.....	19
9.	Bibliografía.....	20

1. Resumen

La Tularemia, es una enfermedad producida por *Francisella tularensis*. Esta enfermedad tiene una distribución prácticamente mundial siendo endémica en varias zonas del mundo entre las que se incluye la comunidad Autónoma de Castilla y León. Al ser una enfermedad con una altísima contagiosidad, es considerada un arma biológica. Hasta el momento no se han demostrado resistencias antibióticas, pero a pesar de un tratamiento correcto no evita completamente la mortalidad. Por todo esto hace imprescindible, conocer las herramientas preventivas, concretamente las vacunas de las que disponemos, su seguridad y la respuesta inmunitaria protectora que generan en humanos. Realizando una revisión sistemática de la evidencia disponible hasta el momento respecto a la eficacia y seguridad de la vacuna *Francisella tularensis subsp. holarctica*. Obtenemos que esta vacuna produce inmunidad celular, humoral e innata además de ser segura.

Palabras Clave: *Francisella tularensis*, inmunidad, vacuna, seguridad.

The Tularemia, is a disease produced by *Francisella tularensis*. This disease has a practically worldwide distribution being endemic in some areas around the world in which are included the autonomic community of Castilla y León. This disease has a high level of contagiousness; it is considered as a biological weapon. At this moment antibiotic resistance is not provided, but a correct treatment does not completely avoid death. For this reason it is essential to know the preventive tools, more exactly the vaccines which are available, its security and the protective immunity response that is generated in the humans. Making a systematic review of the actual available evidence about the efficacy and the security of the *Francisella tularensis subsp. holarctica*. Vaccine. We have the following result: cellular, humoral and innate immunity besides being safe.

Key words: *Francisella tularensis*, immunity, vaccine, security.

A Tularemia, é unha enfermidade producida pola *Francisella tularensis*. Esta enfermidade ten unha distribución practicamente mundial sendo endémica en en varias zonas do mundo entre as que se inclúe a comunidade autónoma de Castilla y León. Ao ser unha enfermidade cunha altísima contaxiosidade, considerase unha arma biolóxica. Ata o momento non se demostraron resistencias antibióticas, malia un tratamento correcto non evita completamente a mortalidade. Por todo isto compre coñecer as ferramentas preventivas, concretamente as vacinas das cales dispoñemos a súa seguridade e a súa resposta inmunitaria protectora que xeran nos humanos. Realizando unha revisión sistemática da evidencia dispoñible ata o momento respecto á eficiencia e a seguridade da vacina *Francisella tularensis subsp. holarctica*. Obtivemos que esta vacina produce inmunidade celular, humoral e innata de ser segura.

Palabras clave: *Francisella tularensis*, inmunidade, vacinas, seguridade.

2. Introducción

La *Francisella tularensis* pertenece al Phylum Proteobacteria, Clase Gammaproteobacteria, Orden Thiotrichales, Familia Francisellaceae, Género Francisella (1).

Es un cocobacilo Gram negativo intracelular, pleomórfico e inmóvil que no genera esporas, pequeño (0,2 x 0,2 x 0,7 µm) (2). Es aerobio estricto no fermentador de carbohidratos (3). Auxotrófica para 6 aminoácidos, que son: histidina, lisina, metionina, cisteína, arginina y tirosina Su crecimiento en cultivos es lento 2-10 días a 37°C y con un pH de 6,8 - 7, siempre en presencia de cisteína y glucosa (4). Presenta una capsula glúcido-lípidoproteica, aunque no todos los autores están de acuerdo (algunos la denominan pseudocapsula), e incluso se han descrito cepas de bacterias sin cápsula, las cuales son menos virulentas para los humanos (5). Dentro de su familia podemos clasificarla en varias especies según las diferencias de su ADN, además ello conlleva distinta patogenia, en tanto en cuanto *F. tularensis subsp tularensis* es la más agresiva frente a *F. tularensis subsp holarctica* y *F. tularensis subsp mediasiatica* con menor patogenicidad, y el caso concreto de *F. tularensis subsp novicida* su patogenicidad en humanos es casi exclusiva en sujetos inmunocomprometidos (4).

Subespecie	Subdivisión y localización
<i>Francisella tularensis subsp. tularensis</i>	Predomina en América
<i>Francisella tularensis subsp holarctica</i>	B1 (Eritromicina Sensible) B2 (Eritromicina Resistente) Japónica (La más extendida)
<i>Francisella Tularensis subsp mediasiatica</i>	Asia y Centro de Rusia.
<i>Francisella Tularensis subsp novicida</i>	América y Australia

Por técnicas moleculares de análisis de Variable Number of Tandem Repeats (VNTR), como recientemente ha publicado Paola Pilo (6) podemos clasificar las distintas subespecies.

Subespecie	Subdivisión
<i>Francisella tularensis subsp. tularensis</i>	A1: Predominante en América (Norte y Este) A2: Oeste de América del Norte
<i>Francisella tularensis subsp holarctica</i>	B16 (biotype japónica) aparece en Japón, Australia, China y Turquía.

B4 presente en Eurasia y América del Norte
B6 América del Norte y Europa.
B12 Eurasia y América del Norte.
B5 Nueva subespecie, primera vez, en el
Tíbet en 2016

Francisella Tularensis subsp mediasiatica

M1, M2 (Siberia) y M3.

Francisella Tularensis subsp novicida

Los hospedadores descritos, son multitud, más de 150 especies de vertebrados y unas 100 especies de invertebrados. En España la única especie demostrada es *Francisella tularensis subsp holarctica*. Resiste la congelación hasta 4 meses, pudiendo sobrevivir en cadáveres durante meses (7). Los lagomorfos (conejos y liebres) junto con los roedores, son reservorios típicos que a su vez actúan como hospedadores, demostrándose causantes de los brotes humanos en España, cuando proliferan en exceso (8). También puede vivir dentro de amebas (*Acanthamoeba castellani*) (7) sobre caparazones de cangrejos (8), y por último, destacar el papel de los artrópodos, como moscas, mosquitos (*Aedes*) y garrapatas (*Dermacentor*, *Ixodes*, *Amblyomma*), que actúan como vectores y reservorios (9).

En España se declara el primer caso confirmado en 1997, desde entonces ha habido un goteo anual de casos, con diferente distribución en las diferentes comunidades autónomas de España y dentro de estas, se aprecian diferencias entre regiones. Podemos destacar tres grandes brotes en nuestro país.

En Castilla y León en 1997-98 (10). El primer caso reconocido fue en noviembre de 1997 si bien existen estudios que afirman la existencia de anticuerpos contra *Francisella tularensis* en la población de Castilla y León previos a esa fecha (11). El brote se inicia, en el contexto de una epizoonosis que produjo la muerte de ente 15.000-20.000 liebres en la comarca de Tierra de campos (formada por zonas de Palencia, Zamora, Valladolid y León) (8). A continuación se declaran hasta un total de 559 casos (hasta abril de 1998). De este primer brote, la comunidad más afectada fue Castilla y León con 513 casos, con una incidencia de 20,6 por cada 100.000 habitantes. También afectó en menor medida a otras comunidades autónomas, las cuales fueron: País Vasco (25 casos), Asturias (6 casos), Cantabria (4 casos), Navarra (3 casos), Madrid (3 casos), en Galicia (2 casos), Cataluña (1 caso), La Comunidad Valenciana (1 caso) y La Rioja (1 caso). Todos los afectados tuvieron contactos con liebres, y ninguno presento antecedentes de picadura por garrapatas (9).

Tabla: Brote 1997-98.

Comunidad Autónoma	Casos
Castilla y León	513
País Vasco	25

Asturias	6
Cantabria	4
Navarra	3
Madrid	3
Galicia	2
Cataluña	1
Comunidad Valenciana	1
La Rioja	1
	559

El segundo brote de 1998, fue en Cuenca (8). Causado por *F. tularensis subespecie holarctica*. Se relacionó con la pesca de cangrejos de río. Se diagnosticaron 19 casos. Todas las formas clínicas de presentación fueron ulceroganglionar (12).

El último gran brote fue en Castilla y León de 2007-2008 (8). Este contó con un total de 507 casos. Por provincias declararon, Ávila (2 casos), Burgos (30 casos), León (49 casos), Palencia (278 casos), Salamanca (8 casos), Segovia (1 caso), Soria (9 casos), Valladolid (61 casos) y Zamora (69 casos). En este brote la clínica más frecuente fue la tifoidea (58,97% de los casos). Esto indica la adquisición por aerosoles contaminados. En 2008 se notificaron 153 casos, la distribución por provincias fue: Ávila (2 casos), Burgos (17 casos), León (18 casos), Palencia (42 casos), Salamanca (10 casos), Segovia (1 caso), Soria (6 casos), Valladolid (31 casos) y Zamora (26 casos) (31). Manteniendo la clínica y vía de contagio predominante de los casos sucedidos en 2007. (9) (13)

Tabla. Brote 2007-08.

Provincia	2007	2008
Ávila	2	2
Burgos	30	17
León	49	18
Palencia	278	42
Salamanca	8	10
Segovia	1	1
Soria	9	6
Valladolid	61	31
Zamora	69	26
	507	153

A raíz de estos grandes brotes, en 2011 pasa a ser enfermedad de declaración obligatoria. Presentando los siguientes datos de contagio en las diferentes comunidades autónomas: (14)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Galicia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Asturias	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cantabria	0	0	0	0	0	1	0	0	0
País Vasco	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Navarra	0	0	0	0	0	0	0	0	0
La Rioja	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Aragón	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cataluña	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Madrid	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Castilla La Mancha	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Valencia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Murcia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Castilla y León	4	2	2	2	112	31	3	14	7
Extremadura	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Andalucía	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Islas Canarias	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Islas Baleares	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceuta	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Melilla	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Cuando un humano susceptible entra en contacto con la bacteria tras un periodo de incubación menor de 15 días aparece la enfermedad clínica, conocida como Tularemia (9) con inicio brusco, de clínica sistémica inespecífica, fiebres, anorexia, escalofríos, etc. (15). Además de la clínica específica según el lugar de entrada del microorganismo dando lugar a las diferentes formas clínicas que reflejan la puerta de entrada (9).

Tabla formas clínicas: (2), (15), (16).

Forma clínica	Características
Ulceroganglionar (La más frecuente)	Transmisión: artrópodo (miembros, cabeza y cuello) o contacto con animal (manos y antebrazos) Incubación: 3-6 días Pápula dolorosa que evoluciona a úlcera con linfadenopatías regionales (raro linfangitis) <u>Complicaciones:</u> En ausencia de tratamiento (neumonía, meningitis,..) Mortalidad <3%
Glandular	Solo adenopatías (sin tratamiento pueden supurar) Forma común de presentación en niños (44%)
Oculoglandular	Contagio por vía ocular (aerosoles,..) Inflamación ocular, purulenta y adenopatías preauriculares y/o cervicales. <u>Complicaciones:</u> úlceras, uveítis, prolapso de iris, Síndrome de Parinaud. Forma rara de presentación
Orofaringea	Contagio por ingestión (agua / alimentos) Amigdalitis dolorosa, úlceras orales y adenopatías cervicales. <u>Complicaciones:</u> Diarrea, vómitos, hemorragia gastrointestinal. Si aparece mortalidad del 60% Más común en niños que adultos.
Neumónica (25%)	Inhalación polvo o aerosoles o diseminación hematógena de otras formas. Forma común de contagio en profesionales de riesgo. Tos no productiva, dolor torácico y dificultad respiratoria. <u>Complicaciones:</u> Síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA) o derrame pleural con características similares a derrame tuberculosos. La mortalidad del 40%
Tifoidea (<10%)	Vía de entrada no conocida. Suele aparecer en personas con patologías de base graves. Clínica inespecífica sin adenopatías. <u>Complicaciones:</u> En niños necrosis intestinal. En adultos puede aparecer colangitis, hepatitis granulomatosa o absceso hepático, osteomielitis, pericarditis, endocarditis, miocardiopatía dilatada o meningitis.
Gastrointestinal	No reconocida por todos los autores.

Las lesiones típicas de la anatomía patológica son necrosis focal con infiltrado de neutrófilos y macrófagos en hígado, bazo e incluso pulmones. Las lesiones locales pueden presentar granulomas con necrosis central (9).

Para realizar el diagnóstico ante la sospecha de un caso probable, se presta especial atención a la clínica y plausibilidad epidemiológica (contacto con animales, profesiones de riesgo, vivir o visitar regiones con alta incidencia de la enfermedad, etc). La confirmación del diagnóstico se realiza a través de cultivo de exudado de la úlcera, esputo o aspirado de la adenopatía, inmunofluorescencia directa (IFD) en la muestra de pus o esputo, Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), serología (ELISA) de

Anticuerpos monoclonales (IgA, IgM e IgG) y fluorescencia de hibridación in situ (FISH). (15) (17) (18).

No existe un tratamiento óptimo pero si existen unas indicaciones, que están resumidas en esta tabla: (15), (16), (19).

	Leve- Moderado	Grave
Adultos	Estreptomina IM (20 mg/kg día) 10 días ó Gentamicina IV (5 mg/ Kg/ día) durante 10 días	Prolongar 14 días o asociar Ciprofloxacino 400 mg/12 h IV.
Niños	Gentamicina (5 mg/kg/día) i.m. o i.v. cada 8-12 h/7-10 días ó Ciprofloxacino (20-40 mg/kg/día) v.o, cada 12 h/ 10-14 días	Estreptomina 15-20 mg/kg i.m., cada 12 h, durante 7-10 días ó Gentamicina, 5 mg/kg i.m. o i.v., cada 8-12 h, durante 7-10 días
Meningitis	Adulto: Aminoglucosido + Cloranfenicol (15-25 mg/ Kg IV 4 veces al día) ó Doxicilina durante 14-21 días. Niños: Gentamicina (5 mg/kg) i.m. o i.v. cada 8-12 h/7-10 días + ciprofloxacino (20-30mg/kg/d) IV, cada 8 o 12 h ó Doxiciclina, (2,2-4,4 mg/kg/día) IV, cada 12 h/14-21días.	
Embarazadas	No existe pauta óptima*	

*No se dispone de ningún antibiótico que se haya comprobado que sea seguro administrar durante la gestación, los aminoglucósidos pertenecen a la clase C/D, las tetraciclinas están en el grupo D y las fluoroquinolonas se encuentran en el grupo C. Por tanto tienen riesgos potenciales sobre el feto durante el embarazo (20). Los pacientes inmunocomprometidos con Tularemia pueden tener un mayor riesgo de recidiva o de fracaso terapéutico.

No se recomienda tratamiento quirúrgico, excepto para el drenaje de ganglios linfáticos y empiema (16).

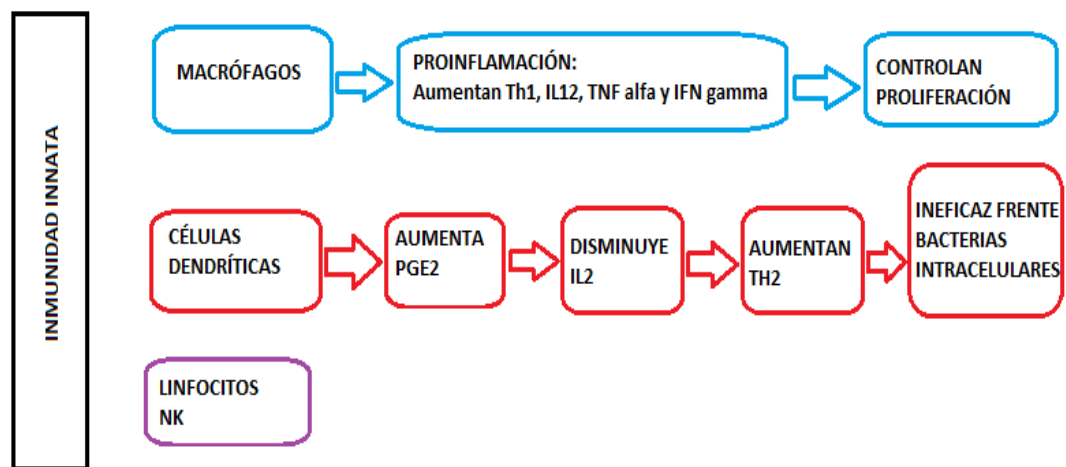
En ratones, se ha observado que el tratamiento con suero de vacunados o pacientes que han superado la enfermedad, muestra resultados esperanzadores, para su aplicación en humanos (16).

En cuanto a su patogenia, *Francisella tularensis*, presenta una fase extracelular y otra intracelular. Desde el punto de inoculación, las bacterias se desplazan hacia los ganglios linfáticos regionales, desde allí se multiplican y se diseminan. Inicialmente puede observarse bacteriemia. Las células a las que ataca principalmente son los macrófagos, uniéndose a su membrana a través del Pili IV. El lipopolisacrido (LPS), se une al receptor TLR4 y lo inhibe, su efecto es la reducción de producción de radicales libre de oxígeno. También presenta unas fosfatasa alcalinas que inhiben al fagosoma,

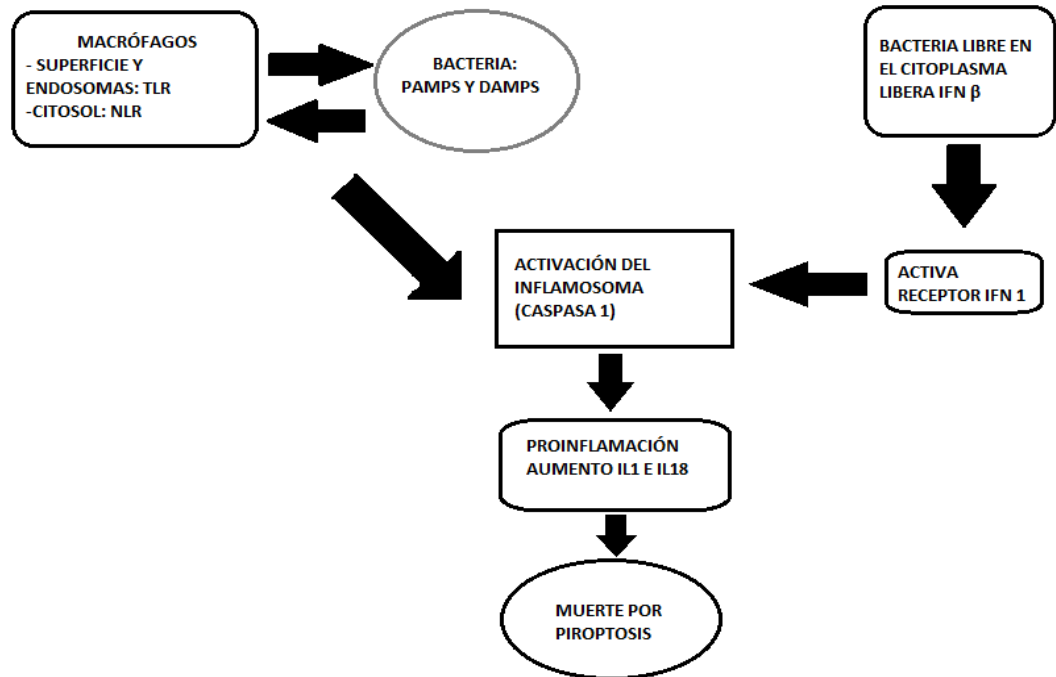
permitiendo la replicación en el citoplasma y finalmente causa la muerte de la célula o la destruye por autofagia (1).

Durante el periodo extracelular, evade al complemento (C3) y a las IgM, para ello utiliza su capsula rica en hidratos de carbono evita la unión de los anticuerpos y cuando el complemento (C3) se une a su membrana, en ese momento actúa el factor H³ que evita la activación de C3 (1).

F. tularensis produce una inmunidad inmediata mediada por macrófagos que produce un estado proinflamatorio mediado por interleuquina 12 (IL-12), factor de necrosis tumoral α (TNF α) e interferón γ (IFN γ) que controlan la proliferación. Este control inicial también se lleva a cabo por células natural killer (NK), células dendríticas (cuya respuesta es ineficaz por activar a los linfocitos Th2) (5).



La bacteria es reconocida por receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) o TLRs (receptores toll-like) o bien en el citoplasma por receptores tipo Nod-like (NLRs) presentes en los macrófagos. Estos reconocen patrones moleculares relacionados con patógenos (PAMPSs) o patrones moleculares asociados a daño (DAMPs). Inician la activación de respuestas proinflamatorias, especialmente el inflamosoma, este para activarse necesita IFN β que activa al receptor del IFN1 lo que sucede por la presencia de la bacteria en el citoplasma, activa la caspasa 1 activando a citoquinas proinflamatorias IL1 e IL18 acabando en muerte celular mediante la vía piroptosis.



Al igual que el resto de microorganismos intracelulares, la respuesta adaptativa está relacionada principalmente con la inmunidad celular, especialmente con los linfocitos T (CD4 y CD8). Estos tras ser activados producen IFN γ y expresan receptores $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$, estos reconocen fosfoantígenos (factores de virulencia). Activa a los macrófagos por la acción de IFN γ y citoquinas proinflamatorias. (9) Por tanto el IFN γ juega un papel importante en la activación de la respuesta inmune además se ha demostrado que su administración exógena reduce la gravedad del cuadro (21). Existen diferencias en la activación inmune dependiendo de la vía de exposición, la vía sistémica (intradérmica o subcutánea) aumenta la producción de IFN γ inmediata (0-2 días tras la exposición), en cambio, la vía inhalatoria, por la que se producen las formas más graves, la respuesta es más tardía (3-5 días) lo que permite la proliferación bacteriana (9).

Tras la infección hay una respuesta celular precoz, por células T, que aparece una semana después de la infección y se ha demostrado que persiste (células T con cuatro proteínas de membrana contra la *F. tularensis*) tras 25 años después de la infección (4). Una vez superada la enfermedad se produce inmunidad permanente, ya que se han demostrado pocos casos de reinfección (7). Se observan anticuerpos tras 2-3 semanas de la infección y se ha demostrado su persistencia al menos 25 años después a (algunos autores durante más tiempo). A los 8 años el 95% de las personas tienen IgG, 55% IgM y el 27% IgA. Según diversos estudios, y teniendo en cuenta estudios con microorganismos similares, han demostrado que la transferencia de anticuerpos no induce inmunidad (4).

Tras conocer las características de esta bacteria, y sus potenciales riesgos, es considerado un agente de bioterrorismo nivel A por la FDA. Actualmente la prevención y el de la enfermedad, se basan en medidas higiénico dietéticas en personas de riesgo y el control veterinario en animales, tanto domésticos como salvajes (22). Tras la segunda guerra mundial, se crea la primera vacuna de cepa virulenta, pero no será hasta 1942, con la Cepa Moscú, menos virulenta pero se demostró eficaz. Posteriormente usan la Cepa 15

que es menos virulenta pero más segura, será en 1960 cuando deja de utilizarse por perder la capacidad inmunógena. A continuación usan la cepa 155 que ceden a Estados Unidos y al cultivarla y exponerla a luz, diferencian dos cepas una gris y otra azul, esta última más virulenta e inmunógena (22). Esta cepa es el origen de LVS han demostrado ser eficaces ya que evitan la destrucción el antígeno protector generando de anticuerpos persistentes e inmunidad celular (células CD8), ambos necesarios para protección contra este tipo de enfermedades. Se han desarrollado dos lotes de esa vacuna la cepa de vacuna viva más nueva es de Dynport Vaccine Company (DVC-LVS), derivada del lote 4 de la vacuna viva del Instituto de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas del Ejército de los Estados Unidos (USAMRIID-LVS) (23). Actualmente no están autorizadas para su uso poblacional solo para ensayos clínicos, hasta tener datos más sólidos sobre su seguridad y efectividad. Desde un inicio se pensó en usar células muertas (Vacuna Fonsay, bacterias muertas por fenol, acetona...) pero se demostró que no generaban protección (18). Actualmente hay varias líneas de investigación, con bacterias vivas atenuadas mutantes (emrA1) o inoculación de antígenos que han demostrado ser inmunógenos (Frop A, Omc, LPS purificado...) (25).

3. Justificación

La razón de este trabajo es la motivación personal por el conocimiento en profundidad de este patógeno humano emergente en nuestro país así como de su vacuna, su seguridad, eficacia y líneas de investigación al respecto.

4. Objetivos

El objetivo de esta revisión sistemática fue sintetizar la evidencia disponible sobre la eficacia de la vacuna viva atenuada *Francisella tularensis subsp holartica* comparando los niveles de anticuerpos (o inmunidad celular o citoquinas) frente a *Francisella* debido a que padecer la enfermedad produce inmunidad a largo plazo en la mayoría de las situaciones. Para conseguirlo fijamos los siguientes objetivos específicos:

- Valorar la producción de inmunidad celular frente a la vacuna.
- Valorar la producción de anticuerpos específicos contra *F. tularensis*, tras la exposición a la vacuna.
- Valorar la producción de citoquinas frente a la vacunación.
- Evaluar si la vacuna viva atenuada es segura.

5. Material y métodos

Se realiza una revisión sistemática de la bibliografía disponible en el momento actual sobre la efectividad de la vacuna viva atenuada con *Francisella tularensis subsp. holarctica*. En primer lugar se han decidido las palabras clave para acotar una búsqueda avanzada, que fueron, (*Francisella tularensis*) AND (live vaccine strain) AND (efficacy). Estos criterios de búsqueda se introdujeron en varias bases de datos: Pubmed y la Biblioteca Cochrane.

Tras esta búsqueda inicial El Pubmed se obtienen 73 resultados, tras establecer unos límites con filtros que fueron: “free full text”, “humans” y unos límites temporales “from 01/01/2000 to 31/12/2020”. Reduciéndose la búsqueda a 17 resultados.

Se seleccionaron un total de 6, el resto son eliminados debido a que los ensayos se realizaron en modelos murinos. Tras un análisis más exhaustivo solo tres de los artículos cumplieron los criterios de inclusión que se enumeran a continuación.

- Estudios realizados en humanos.
- Valorar como resultados presencia de anticuerpos y/o células de inmunidad innata y/o respuesta de las citoquinas.

Tras realizar la misma búsqueda en la Biblioteca Cochrane no se obtienen resultados. Pero Ampliando la búsqueda avanzada a (*Francisella tularensis*) AND (live vaccine strain) se obtubieron 6 artículos. Tras aplicar los mismos filtros se reducen a 5. De los cuales 2 ya aparecían en Pubmed, y otro no cumple criterios de inclusión establecidos. Los dos restantes que cumplen todos los criterios no está disponible el texto completo de forma libre.

Los artículos seleccionados fueron:

Autor	Titulo
Anders Sjöstedt et al. 2011	Persistence of cell-mediated immunity three decades after vaccination with the live vaccine strain of <i>Francisella tularensis</i> .
WA Keitel et al. 2009	Safety, Reactogenicity and Immunogenicity of <i>Francisella tularensis</i> Live Vaccine Strain in Humans.
Johannes B. Goll et al. 2017	Tularemia Vaccine: Safety, Reactogenicity, “Take” Skin Reactions, and Antibody Responses following Vaccination with a New Lot of the <i>Francisella tularensis</i> Live Vaccine Strain - A Phase 2 Randomized Clinical Trial.

6. Resultados

Tras un análisis de los artículos seleccionados, se desglosan las siguientes variables:

Autor y año	Anders Sjöstedt et al. 2011	WA Keitel et al. 2009	Johannes B. Goll et al. 2017
Tipo Estudio	Cohortes retrospectivo	Ensayo clínico	
Población	45	168	228
Subgrupos	Grupo Vacunados: (>27 años):16 (<3años):16 Grupo no vacunados:13	Escarificación: subgrupos de 12) Subcutáneo: (4 subgrupos de 12 Controles: 84	(3 Vacuna1:113 Vacuna 2:115
Medición	Un análisis sangre	Prevacuna Postvacuna (+14, +28,+84,+180 días)	Seguridad hasta día 28. Seroconversión días 28 y 56. Reactogenicidad días 7 y 9 postavacunación.
Vacunas	LVS NDBR 101 lote n1 11	Nueva vacuna fabricada por DVC	LVS Vacuna1: DVC-LV lote 703-0505-020: 113 Vacuna 2: USAMIID-LVS NDBR lote 4: 115
Posología	No consta	<u>Escarificación:</u> 1A:[2,5*10 ² UFC] 1B:[2,5*10 ⁴ UFC] 1C:[2,5*10 ⁶ UFC] <u>Subcutáneo:</u> 2A[10UFC] 2B[10 ² UFC] 2C[10 ³ UFC] 2D[10 ⁴ UFC] <u>Grupo 3: Control</u>	Vacuna 1: aprox. 10 ⁸ UFC Vacuna 2: aprox. 10 ⁹ UFC
Valoración	Proliferación linfocitos. Producción citoquinas. Expresión IFN γ , ante antígenos <i>F. tularensis</i> .	Eliminación bacterias. Respuesta serológica. Liberación IFN γ . Reactogenicidad local y respuesta inmune.	Seguridad. Reactogenicidad. Respuesta anticuerpos.

En cuanto a los resultados obtenidos del análisis de los datos aportados por los estudios:

	Anders Sjöstedt et al. 2011	WA Keitel et al. 2009	Johannes B. Goll et al. 2017
Citoquinas	<p>IL17, TNFα e IL5 mayor en vacunados que no vacunados.</p> <p>Excepto IL12 [0.02] no diferencias entre vacunas y concentraciones.</p> <p>IL7 aumenta e IFNγ baja el día 3 se invierte el día 5.</p> <p>IL17 mayor en vacunados que no vacunados.</p>	<p>IFNγ mayor en vacunados por escarificación que placebo.</p> <p>IFNγ solo mayor que placebo en 10^5 en vacuna subcutánea.</p> <p>Todas escarificación y SQ10^5 IFNγ mayor que placebo el día 28.</p> <p>IFNγ correlaciona con cantidad de IgA e IgM el día 28.</p> <p>IFNγ no relaciona con eritema.</p> <p>IFNγ relaciona con tamaño de induración.</p>	No valorado.
Celular	<p>Linfocitos mayor proliferación en vacunados que no vacunados (no diferencias entre vacunas).</p> <p>Aumento IFNγ y células memoria dependiente de antígeno en vacunados.</p> <p>Aumento IFNγ procedente de CD4+ pero no CD8+.</p> <p>Producción de IFNγ aumentada en células CD45RO+ y CCR7+ o CD45RO+ CD62+.</p> <p>Aumento células T memoria CD4 (CD62L+ > CD62L-) y (CCR7+ > CD62L+, pero se relacionaban)</p> <p>No diferencias entre vacunas.</p>	No valorado.	No valorado.

<p>Humoral</p>	<p>No valorado.</p>	<p>SCAR 107 y 109 mayores IgG, IgA e IgM que placebo.</p> <p>Excepto SQ10⁴ (IgM), no diferencias con placebo.</p> <p>SCAR 107 y 109 IgG e IgM el día 28 mayor que placebo.</p> <p>Induración relacionada con microaglutinación.</p> <p>Induración máxima relacionada con IgA e IgM.</p>	<p>Ambas vacunas seroconversión del 94%</p> <p>El día 14 seroconversión DVC-LVS (82%) > DCV-USAMIID (55%). Resto de días no diferencias.</p> <p>No diferencias entre valor de Anticuerpos por microaglutinacion y edad, dosis o sexo.</p>
<p>Reactogenicidad</p>	<p>No valorado.</p>	<p>Eritema mayor duración en grupo escarificación.</p> <p>SCAR 109, SQ10⁴ y 10⁵ lesiones mayores que el resto.</p>	<p>Leve y similar en ambos grupos.</p> <p>No diferencias en relación con induración y eritema.</p>
<p>Seguridad</p>	<p>No valorado.</p>	<p>Efectos adversos leves y sin diferencias entre grupos.</p> <p>133 efectos adversos, de los cuales solo 21 relacionados con vacuna.</p> <p>Aumento de CK y ALT (autoresolución) grupos SCAR107, SQ10² y SQ10⁴.</p> <p>Efecto adverso grave en grupo placebo.</p> <p>5 casos linfangitis (4 SCAR 109 y 1 SQ10⁵).</p> <p>Bacteriemia en sangre negativa, solo 5 PCR positiva el primer día en frotis de piel.</p>	<p>El efecto adverso más frecuente el dolor.</p> <p>No diferencias entre efectos adversos y grupos.</p> <p>No linfangitis.</p> <p>No diferencias entre síntomas sistémicos.</p> <p>Mayoría de efectos leves-moderados y no hay diferencias entre grupos.</p>

7. Discusión

Es importante conocer las herramientas de tratamiento y prevención de la Tularemia, debido a que es una enfermedad con una distribución mundial y alta letalidad sin un tratamiento adecuado, que genera un gran número de ingresos, muchas veces innecesarios por la gravedad del cuadro pero sí por la alarma social que generan. Además de ser una enfermedad emergente en España y ya endémica en ciertas regiones del país. Por su elevada morbimortalidad es considerado un potencial agente de bioterrorismo. Si bien no se ha demostrado una transmisión persona a persona, sí que tiene una alta contagiosidad, siendo suficiente para generar infección en humanos 10^5 Unidades formadoras de colonias (UFC) por vía inhalada o inoculada y de 10^6 UFC ingeridas.

Actualmente de prevención que existen en la actualidad son medidas higiénico-sanitarias centradas en el control veterinario de los hospedadores y vectores, estas son vitales para el control y no pueden desaparecer pero podrían llegar a no ser suficientes.

La vacunación ha demostrado ser eficaz en la prevención y la reducción de los efectos nocivos de otras enfermedades y por tanto es un método muy útil la erradicación o control de las enfermedades siempre y cuando sean seguras y eficaces.

Por ello es imprescindible conocer, cuales son las vacunas de las que disponemos contra esta bacteria así como su eficacia y seguridad.

Existe controversia en la efectividad y la seguridad de la vacuna viva atenuada frente a la *Francisella tularensis*. A lo largo de la historia se ha buscado hacer frente a esa enfermedad intentando obtener una vacuna por diferentes mecanismos de producción. La única vacuna hasta la fecha autorizada en humanos es la vacuna viva atenuada *Francisella tularensis subsp. holarctica*. Para poder extender su uso en caso de ser necesario debemos conocerla más en profundidad. Lo que sí se ha demostrado, y por ello se ha permitido el uso de esta vacuna en situaciones concretas es que evita la infección frente a las cepas más virulentas en humanos concretamente, *F. tularensis subsp tularensis*, en caso de producirse el contagio, evitan desarrollar una enfermedad grave. En esta revisión nos centramos en su seguridad y en la capacidad de producir una respuesta inmunitaria. En lo referente a la respuesta inmunitaria analizamos la inmunidad humoral y más específicamente, debido a las características de la bacteria, la inmunidad celular y la producción de citoquinas.

A lo largo de esta revisión se valora la producción de citoquinas, obteniéndose un aumento de la producción de IL17, IL5 y TNF α . En cuanto al IFN γ , imprescindible para la defensa frente a patógenos se observa un aumento en la producción en el grupo de los vacunados, mayor si esta se administra por escarificación, necesitando mayor concentración para obtener el mismo efecto por vía subcutánea. Además existe correlación entre la producción de IFN γ y el tamaño de la induración. También podemos correlacionar los valores de IgA e IgM y la producción de IFN γ . Se comprobó un aumento de IL17 y disminución de IFN γ el día 3 y posterior inversión de esta situación el día 5. Esto concuerda con la evidencia actual de producción de respuesta inmunitaria eficaz frente a bacterias intracelulares ya que cumple los criterios establecidos y demostrados en otros patógenos muy similares (24).

En cuanto a la respuesta celular aumenta la proliferación de linfocitos T y aumento de los linfocitos T memoria, aumentando mayoritariamente los subtipos dependientes de IFN γ , indicando una activación procedente de la respuesta inespecífica de las citoquinas derivada de la exposición a la vacuna. Esto refuerza la idea anterior, existe respuesta eficaz y genera inmunidad específica y duradera, como se ha demostrado con otras vacunas vivas atenuadas frente a otros microorganismos con ciclos biológicos parecidos.

En lo referente a la inmunidad humoral existe seroconversión en el grupo de vacunados, no mostrando diferencias entre sexos, edad y vacuna, pero si hay diferencias en el tipo de vía de administración, necesitando mayores dosis por vía subcutánea para obtener respuesta humoral. Estos datos ayudarían a seleccionar la mejor vía de administración, en lo referente a la efectividad. Hay relación entre la respuesta humoral y el tamaño de la induración, haciendo de esta un marcador de respuesta inmune.

En lo referente a la seguridad, no hay producido efectos adversos graves relacionados con la vacuna. Los relacionados con la vacuna han sido leves- moderados y el mayoritario ha sido el dolor en el lugar de inoculación. Podemos decir que es una vacuna segura. Con estos datos y los obtenidos sobre la eficacia, plantean nuevas líneas de investigación, para buscar la máxima efectividad y seguridad combinando diferentes vías y distintas dosis para obtener una efectividad al menos no inferior minimizando los efectos adversos.

La reactogenicidad valora la induración y eritema que han sido leves y temporales. La induración ha demostrado relacionarse con la cantidad de IFN γ , IgA e IgM, por tanto podría utilizarse como un marcador de inmunización.

Como limitaciones de estos datos, podemos destacar la dificultad para poder realizar estudios en humanos, el desconocimiento de cuál es el mecanismo concreto que genera la respuesta inmune frente a la *Francisella tularensis* y el reducido número de estudios realizados y de los cuales tienen poca validez externa debido a los estrictos criterios de inclusión y exclusión.

A la vista de estos datos podríamos pensar en utilizar esta vacuna en poblaciones en riesgo, como pudieran ser personal de laboratorio, veterinarios, agricultores, ganaderos y cazadores en zonas de alto riesgo o en el contexto de un brote, debido a la seguridad y tolerabilidad de esta vacuna y siempre teniendo en cuenta las características individuales de esos sujetos, excluyendo de la administración con los mismos criterios que se utilizan para el resto de vacunas vivas atenuadas. Se debería continuar con esta vía de investigación para ampliar la información disponible y comprobar su inmunogenicidad, a corto y largo plazo, para comprobar que esa inmunidad es permanente, y no tener que asumirlo por similitud a otras vacunas. Como ya mencioné con anterioridad, a pesar de que los efectos secundarios son leves, convendría optimizar la vía y dosis de administración para buscar la mejor relación dosis- respuesta minimizando los efectos adversos.

8. Conclusiones

Con los datos obtenidos podemos concluir:

- La vacuna produce inmunidad celular específica frente a *Francisella tularensis* derivada de la vacunación.
- La vacunación produce anticuerpos específicos contra *F. tularensis*.
- Aumenta la producción de citoquinas, especialmente $\text{IFN}\gamma$, frente a la vacunación.
- Se comprueba que la vacuna es segura, produciendo efectos adversos leves-moderados y descartando la presencia de efectos adversos graves derivados de ella.

9. Bibliografía

1. Martínez Martínez S. Universidad de León [Internet]. León: 19 Mar 2021. *F. tularensis* virulencia, evasión del complemento y entrada en macrófagos. [Consultado 23 Abr 2021]. Disponible en: <https://sso.unileon.esSAML2/SSOService>
2. Instituto Nacional de seguridad e higiene en el trabajo. [Internet]. Madrid: Databio; 10 Feb 2015. *Francisella tularensis* [Consultado: 24 mar 2021]
3. Morray R. P, Rosenthal S. K, Pfaller A.M. Microbiología medica. 9ª ed. Barcelona: Elsevier, 2021. Otros bacilos gramnegativos, 29; p. 300-303.
4. Rodríguez Ferri EF. Anales de la Real Academia de Doctores. 5º Ed. Madrid: Ciencias de la Salud, Tularemia en España; p. 349-372.
5. Rodríguez Ferri EF et al. Tularemia. Una aproximación a su estudio integral en Castilla y León. León 2017. 1 Tularemia, Género Francisella. *Francisella tularensis*; p. 21-31.
6. Pilo P. Phylogenetic lineages of Francisella tularensis in animals. *Frontiers in cellular and infection microbiology*.(31 Jul 2018); 8 : p. 258-269.
7. Rodríguez Ferri EF. Tularemia brote nuevo en Castilla y León en 2007. *Colmeva*.2008; Zoonosis: p. 74-86.
8. López Salas D, Mato Jimeno V. Revisión de la situación epidemiológica actual y contexto histórico de la Tularemia en España. [Internet]. Valladolid: (UVA): 2016. Mecanismo de transmisión; (p.6). [Consultado 25 mar 2021]. Disponible en: <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/18764>
9. Rodríguez Ferri EF et al. Tularemia. Una aproximación a su estudio integral en Castilla y León. León 2017. 5 Cuadro clínico de la Tularemia. P. 84-90.
10. Instituto de Salud Carlos III. [Internet]. Madrid: 1998. Boletín Epidemiológico semanal: semana 43. [Consultado: 20 enero 2021]. Disponible en: <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=25/04/2013-85375d7f73>
11. Purificación Gutiérrez M, Orduña A, Dueñas A, Ángel Bratos M, Almaraz A, Álamo R, et al. Prevalencia de anticuerpos frente a Francisella tularensis en la población de Castilla y León con anterioridad a 1997. *Medicina Clínica* 2003; 120 (3):97-98.
12. Díaz de Tuesta, A. M., Chow-Quan, Geijo Martínez MP, Dimas Núñez J, Díaz de Tuesta, F. J., Herranz CR, et al. Brote epidémico de tularemia en la provincia de Cuenca en relación con la manipulación de cangrejos. *Revista Clínica Española* 2001; 201 (7):385-389.
13. Red de vigilancia Epidemiológica de Castilla y León [Internet]. Valladolid: 2008. Informe sobre la situación epidemiológica de los casos confirmados de Tularemia en Castilla y León. Año 2007. [Consultado: 12 feb 2021] Disponible en : <https://www.saludcastillayleon.es/profesionales/es/enfermedades-infecciosas/tularemia/vigilancia-epidemiologica-tularemia-castilla-leon.ficheros/1386530-A%C3%B1o%202007%20Informe%20sobre%20la%20situaci%C3%B3n%20epidemiol%C3>

[%B3gica%20de%20los%20casos%20de%20tularemia%20en%20Castilla%20y%20Le%C3%B3n.%20A%C3%B1o%202007.pdf](#)

14. Centro Nacional de Epidemiología. Monografías [Internet]. Madrid. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual (Años 2011-2018). [Consultado: 15 abr 2021] Disponible en: <https://publicaciones.isciii.es/unit.jsp?unitId=cne>

15. Rozman C, Cardellach F. Medicina interna. 19 ed. Barcelona: Elsevier; 2020. 256 Infecciones causadas por Haemophilus y otros bacilos gramneagtivos. p. 2129- 2136.

16. Bennet EJ, Dolin R, Blaser JM. Mandell, Douglas, Benett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. 9º ed. Barcelona: Elsevier, 2020. Volumen 1. 227 Francisella tularensis (Tularemia), p. 2759-2773.

17. Organización mundial de sanidad animal [Internet]. May 2016. 3.1.22 Tularemia. [Consultado: 15 May 2021]. Disponible en: <https://www.oie.int/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-manual-terrestre/>

18. Bases para el manejo médico de enfermedades bacterianas potencialmente implicadas en bioterrorismo: ántrax, peste, tularemia y brucelosis. Anales de Medicina Interna: SciELO España; 2003.

19. Mensa J, López-Suñé E, Llinares P, Zboromyrska Y, Barberán J. Guía de terapéutica antimicrobiana 2021. 30º ed. Barcelona: Antares; 2021. P. 411.

20. Primaria [Internet]. Medicamentos y embarazo. Riesgos de su utilización. [Consultado: 24 Abr 2021] Disponible : https://www.laria.com/images/imagenes_subidas/MEDICAMENTOS%20Y%20EMBARAZO.pdf

21. Ellis J, Oyston PCF, Green M, Titball RW. Tularemia. Clinical Microbiology Reviews. 15 Oct 2002; (4): 631-646.

22. Rodríguez Ferri EF. Lo que usted debe saber de la: Tularemia la enfermedad de las liebres. León: 1º ed.1998. p 21-24

23. Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW. Tularemia. Clin Microbiol Rev. 2002 Oct;15(4):631-46.

24. Natrajan MS, Roupheal N, Lai L, Kazmin D, Jensen TL, Weiss DS, et al. Systems Vaccinology for a Live Attenuated Tularemia Vaccine Reveals Unique Transcriptional Signatures That Predict Humoral and Cellular Immune Responses. Vaccines 2019 -12-24;8

25. Pittman PR, Plotkin SA. Biodefense and special pathogen vaccines. Plotkin's Vaccines 2018:149.

26. Eneslätt K, Rietz C, Rydén P, Stöven S, House RV, Wolfraim LA, et al. Persistence of cell-mediated immunity three decades after vaccination with the live vaccine strain of Francisella tularensis. European journal of immunology 2011 Apr;41(4):974-980.

27. El Sahly HM, Atmar RL, Patel SM, Wells JM, Cate T, Ho M, et al. Safety, reactogenicity and immunogenicity of *Francisella tularensis* live vaccine strain in humans. *Vaccine* 2009;27(36):4905-4911.

28. Mulligan MJ, Stapleton JT, Keitel WA, Frey SE, Chen WH, Roupael N, et al. Tularemia vaccine: Safety, reactogenicity, “Take” skin reactions, and antibody responses following vaccination with a new lot of the *Francisella tularensis* live vaccine strain – A phase 2 randomized clinical Trial. *Vaccine* 2017 Aug 24; 35(36):4730-4737.