

Ana Rita Azambuja Rocha

Vacinas como alternativa na profilaxia de infeções do trato urinário

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



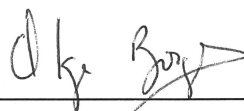
Eu, Ana Rita Azambuja Rocha, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009400, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 18 de julho de 2014.

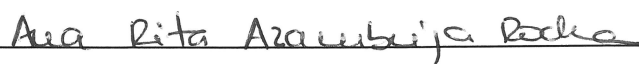
as)

A tutora



Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro

A aluna



Ana Rita Azambuja Rocha

*Aos meus pais e avós,
obrigada por estarem sempre presentes.*

*Um agradecimento especial à minha tutora,
Professora Doutora Olga Borges, por todo o apoio e orientação.*

Índice

| | |
|---|----|
| Abreviaturas..... | 2 |
| Resumo | 3 |
| Abstract | 4 |
| 1. Etiologia das Infecções do Trato Urinário..... | 5 |
| 2. Utilização de vacinas para profilaxia em ITU | 10 |
| 2.1. Urovac [®] (Via Intravaginal) | 11 |
| 2.2. Uro-Vaxom [®] (Via Oral) | 13 |
| 2.3. Uromune [®] (Via Sublingual)..... | 15 |
| 2.4. Vacinas em fase de estudos pré-clínicos (Via Intranasal) | 16 |
| 3. Mecanismo de vacinação através das mucosas..... | 20 |
| Conclusão..... | 23 |
| Bibliografia | 24 |
| Anexos | 26 |

Abreviaturas

CFU – Unidades Formadoras de Colónias

ITU – Infeção do Trato Urinário

ITUr – Infeções recorrentes do Trato Urinário

PAMPs – *pathogen-associated molecular patterns*

PRRs – *pattern recognition receptors*

TC – Toxina da Cólera

UC + – Uroculturas positivas

UPEC – *Escherichia coli* uropatogénica

Resumo

A ocorrência de infecções do trato urinário é bastante elevada, não obstante o organismo humano possuir mecanismos naturais de proteção contra microorganismos, como sejam o fluxo constante de urina, as eficientes barreiras fisiológicas e a existência de células do sistema imunológico nas mucosas associadas ao sistema geniturinário.

Aproximadamente metade da população mundial feminina e 12 % da população masculina já tiveram ou irão ter uma infecção urinária. Esta elevada incidência traduz-se em milhões de visitas aos sistemas de saúde primários, contribuindo assim, numa elevada percentagem para os custos de saúde.

Atualmente, o tratamento profilático de primeira linha utilizado neste tipo de patologia resume-se à toma de antibióticos em baixas doses, por um período de tempo alargado. Porém, esta questão remete-nos para uma nova e séria problemática emergente na sociedade médica atual – os níveis cada vez maiores de resistências bacterianas a antibióticos.

Uma das abordagens promissoras e com maior potencial é a vacinação através das mucosas utilizando os antígenos de superfície das bactérias que normalmente provocam as infecções, sendo a mais comum, a *Escherichia coli*.

Nesta perspetiva, incluo na monografia apresentada, algumas das vacinas sobre as quais existem resultados promissores para que sejam desenvolvidas e utilizadas futuramente em larga escala. Incluem as seguintes vias de administração: intravaginal (Urovac[®]), oral (Uro-Vaxom[®]), sublingual (Uromune[®]) e intranasal (uma delas utilizando recetores de ferro da bactéria *Escherichia coli* e outra, fímbrias de *Proteus mirabilis*). Todas elas constituem alternativas que prometem ser passíveis de proteger a mucosa do trato urinário contra infecções deste género, demonstrando resultados bastante promissores.

Abstract

Despite the natural mechanisms that protect us against the microorganisms such as the constant flow of urine, efficient physiologic barriers and the existence of immune cells from the mucosal immune system of the genitourinary tract, the occurrence of urinary tract infections is quite high.

Almost half of the worldwide female population and 12 % of the male population will experience an urinary tract infection in some point on their lives. This high incidence brings millions of visits to the primary healthcare, being a substancial part of the economic costs associated.

Nowadays, the first line prophylactic treatment in this pathology comes down to the take of antibiotics in lower doses, for a long period of time. However, this situation refers us to a new and serious problematic emerging in the actual medical society – the higher levels of bacterial resistance to antibiotics.

One of the most promising approaches and with higher potential is the vaccination through the mucosal immune system using bacterial surface antigens which usually cause infections, such from *Escherichia coli*, the most common microorganism.

On this point of view, I present some vaccines that have already presented some positive and promising results, having the potentiality to be developed and utilized in a broad scale. They include the following routes of administration: intravaginal (Urovac[®]), oral (Uro-Vaxom[®]), sublingual (Uromune[®]) and intranasal (one of them utilizes iron receptors from *Escherichia coli* and another one uses *Proteus mirabilis* fimbriae). Each one of them constitute alternatives which likely can become a promise on protecting the urinary tract mucous against this kind of infections.

I. Etiologia das Infecções do Trato Urinário

As infecções do trato urinário (ITU), tanto quanto se pode comprovar, são das infecções que mais prevalece em toda a população mundial, sendo por isso, uma das causas de consulta frequente nos cuidados de saúde primários. Pode manifestar-se com diferentes graus de severidade, dependendo do sistema imunológico do paciente e do agente etiológico causador da infecção. A *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC) é o agente etiológico responsável em mais de 80 % dos casos (1). No entanto, outras bactérias poderão estar na origem deste tipo de infecções, tais como *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella pneumoniae* ou o *Streptococcus* do grupo B (1).

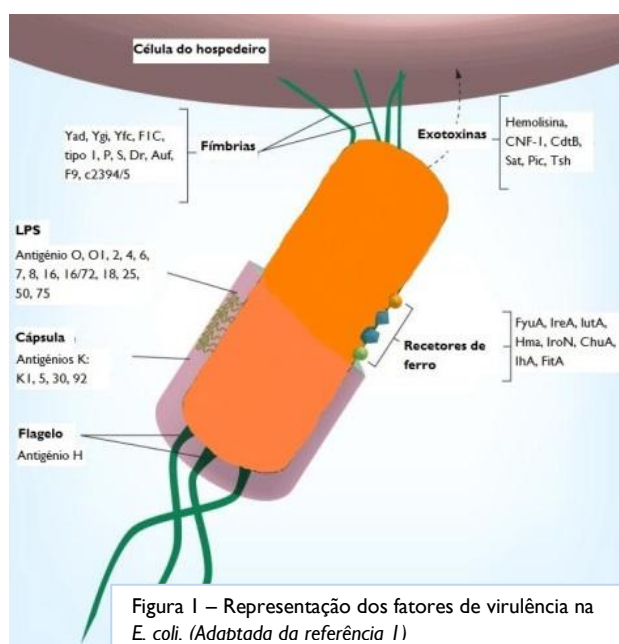
Em circunstâncias normais, as bactérias são eliminadas devido às características intrínsecas ao sistema urinário e à composição da urina. Entre elas destacam-se o fluxo constante de urina, o pH ácido, a presença de células polimorfonucleares, a glicoproteína de *Tamm-Horsfall*, a concentração de ureia e a osmolaridade que são características específicas que inibem a adesão bacteriana à mucosa vesical (2). Se essas bactérias não forem eliminadas, iniciar-se-á a colonização, com adesão do microrganismo ao urotélio, através de estruturas específicas, que pode levar ao desenvolvimento de uma infecção, que implica lesão do epitélio vesical (3).

De acordo com o local afetado, estas infecções podem ser classificadas como: uretrite (uretra), cistite (bexiga), prostatite (próstata) ou pielonefrite (rins), sendo a segunda a mais comum e a última a que causa maior preocupação, uma vez que poderá constituir a forma mais grave da infecção (4). Adicionalmente, se não se produzir nenhuma lesão inflamatória da mucosa, poderá tratar-se de uma colonização assintomática, o que leva a uma bacteriúria assintomática. Quando o microrganismo, aderido ao epitélio causa danos tecidulares, que se traduzem no aparecimento de sintomatologia clínica de tipo inflamatório-doloroso, gera-se uma infecção sintomática (3). São características típicas de uma cistite aguda: disúria, frequência e urgência urinária, dor supra-púbica, polaciúria, ardor miccional, urina com mau odor, presença de leucócitos e possibilidade de identificação da bactéria na urina, por análise em meio de cultura. Quando existe febre e dor lombar, haverá possibilidade de estar a ocorrer uma pielonefrite (5).

Esta situação pode afetar indivíduos de todas as faixas etárias e de ambos os sexos, embora se saiba que, tem uma maior expressão na população do sexo feminino. Aproximadamente metade de toda a população feminina irá experienciar um episódio de infecção urinária durante a vida e destas, uma em cada quatro terá pelo menos uma

recorrência dentro de 6 a 12 meses (1). Este facto deve-se a uma conjugação de fatores desencadeadores, nomeadamente derivada da própria natureza anatómica da mulher, que propicia uma fácil passagem das bactérias do trato gastrointestinal para o trato urogenital. Como se sabe, bactérias como a *Escherichia coli* são comensais da flora intestinal humana, podendo, em certas alturas, ter acesso à bexiga, via uretra (quando a higiene após defecação não é a mais correta, por exemplo), pelo facto da zona anal se encontrar próxima da zona urogenital. É por esta razão que o sexo feminino tem maior propensão para este tipo de infecções do que o sexo masculino, uma vez que o ânus e a uretra se situam mais próximos do que no homem, que, para além disso, segrega o líquido prostático com alguma ação antimicrobiana (6).

Todavia, este fator não é o único preponderante, sendo que a barreira entre o comensalismo e a infeção resulta igualmente de um balanço entre o estado do sistema imunológico, mecanismos defensivos locais do hospedeiro e a expressão de fatores de virulência da bactéria (6), que são características da mesma e que contribuem para o sucesso do desenvolvimento ou reaparecimento da designada infeção. Os fatores de risco associados são um grande contributo para que se proporcione um ambiente mais favorável à entrada de bactérias através da mucosa, entre eles estão: 1 – a atividade sexual, porque permite com facilidade a entrada das bactérias no trato urogenital, constituindo um fator de risco preponderante entre as mulheres, daí o pico de incidência destas infeções não complicadas do trato urinário baixo ser observado entre os 18 e os 39 anos (coincidindo com a idade de máxima atividade sexual na mulher) (5); 2 – mulheres em pós-menopausa, uma vez que a falta de estrogénio, que protege a vagina da colonização por *Enterobacteriaceae* por estimular o crescimento de *Lactobacilli* vaginais, está associada a um aumento de ITU (4); 3 – quando existe a necessidade de introdução de cateter (possibilidade de colonização e formação de biofilmes na superfície deste) (6); 4 – presença de fatores de virulência no microorganismo (Tabela 1), possibilitando a aderência deste às células da mucosa, multiplicação e colonização do trato urinário, invadindo o mesmo e permitindo assim a sobrevivência do microorganismo em ambiente menos



próprio (ex. urina) ao seu desenvolvimento (6);

Tabela 1 – Fatores de virulência localizados estrategicamente, com alguma frequência na superfície da bactéria e que apresentam maior expressão na UPEC. (Adaptada das referências 1, 2, 6, 7).

| |
|---|
| Adesinas, fímbrias ou pili |
| Organelos responsáveis por permitirem a adesão da bactéria às células da mucosa do hospedeiro (no genoma da UPEC são possíveis de encontrar em maior quantidade do que nas comensais) (2). Estão identificados três diferentes tipos de fímbrias: tipo I (FimH), que medeia a aderência às células epiteliais da bexiga através de uma ligação sensível a resíduos de manose no urotélio; tipo P (PapG), responsável pelo início da cascata inflamatória e que se liga a glicoproteínas específicas na superfície do epitélio renal, sendo que mais de 90% das <i>E. coli</i> causadoras de pielonefrite possuem fímbrias deste tipo; e fímbrias do tipo S (2). |
| Flagelo |
| Essencial para o movimento da bactéria e para o seu mecanismo de ascensão (na maioria das vezes, esta infecção dá-se por via ascendente) (6). |
| Sistemas de aquisição de Ferro (receptores de ferro à superfície) |
| O ferro é necessário em vários processos celulares e essencial para o crescimento da bactéria (7). Assim, esta tem um mecanismo que lhe permite obter ferro das reservas do hospedeiro através da expressão de fatores quelantes de ferro (sideróforos). Posteriormente, a bactéria recupera esses sideróforos ligados ao ferro, através de receptores na superfície que facilitam o transporte deste complexo pela membrana até ao citoplasma, onde o ferro é libertado (7). |
| Exotoxinas (hemolisina, fator necrótico citotóxico) |
| Fornecem os meios para infligir danos no tecido da mucosa, facilitando a disseminação da bactéria bem como a libertação de nutrientes do hospedeiro e incapacitando as células efetoras do sistema imune (7). Têm também a capacidade de modular, de forma mais subtil, algumas vias de sinalização do hospedeiro, afetando diversos processos subjacentes, incluindo respostas inflamatórias, sobrevivência de células do hospedeiro e dinâmica do citoesqueleto (7). |
| Polissacarídeos superficiais e Cápsula |
| Permite a evasão da bactéria ao mecanismo de defesa do hospedeiro, como seja a opsonofagocitose, o ataque pelo sistema do complemento. Mais recentemente, estudos vêm a demonstrar que a cápsula, bem como os lipopolissacarídeos poderão encobrir e mascarar epítomos na superfície da bactéria, escapando assim do reconhecimento por parte de anticorpos do hospedeiro (1). |

5 – por último, a preocupante emergência de resistências bacterianas aos antibióticos, usados como primeira linha no tratamento bem como em profilaxia de ITU recorrentes (ITUr) (1).

A ITU é uma das infeções com maior expressão na população, apresentando muitas vezes características recorrentes, assim consideradas quando ocorrem pelo menos 3 episódios de infeções não complicada e documentada por cultura no espaço de 12 meses ou pelo menos 2 episódios no espaço de 6 meses (8). Assim sendo, têm a capacidade de voltar a infetar o mesmo indivíduo com facilidade, o que é bastante penoso em termos de saúde e qualidade de vida, além dos custos socioeconómicos associados (1). Este facto pode ser atribuído, em grande parte, ao aparecimento de resistências bacterianas a antibióticos, que temos vindo a assistir, o que demonstra ser bastante preocupante para a saúde pública (1). Assim, começa um ciclo vicioso que tem início numa nova infeção, conseqüente busca de tratamento, falha na erradicação, novas avaliações e novos tratamentos, com todos os custos que lhe estão associados. Na atualidade, este é um tema que preocupa a comunidade médica

em geral, merecendo toda a nossa atenção, uma vez que estes microorganismos estão a perder a sua sensibilidade aos antibióticos, ao passo que estamos a chegar a um patamar em que a descoberta de novos fármacos tem sido mais lenta do que a necessidade dos mesmos (6), podendo portanto, colocar em causa a sua eficácia no futuro, e hoje, o que é uma simples infeção, tornar-se-á numa questão complexa de resolver no futuro.

O tratamento usual consagrado na profilaxia de ITU consiste na toma de antibióticos em baixas doses, durante um período de tempo mais alargado, sendo a duração habitual do primeiro ciclo de profilaxia contínua cerca de 6 meses (3). Este facto constitui um entrave, uma vez que, para além de proporcionar um meio que leva ao aumento do ciclo de resistências bacterianas inerentes, o uso continuado de antibióticos poderá também afetar a flora comensal nos indivíduos, propiciando o aparecimento de infeções fúngicas vaginais ou alterações gastrointestinais secundárias ao tratamento (1). A profilaxia antibiótica recomendada pela *European Association of Urology* e adaptada ao prontuário Nacional encontra-se representada na Tabela 2 (5).

Tabela 2 – Antibióticos mais utilizados na profilaxia de ITU e seu esquema terapêutico. (Adaptada da referência 5)

| | |
|---|-------------------------------|
| Cotrimoxazol (sulfametoxazol+trimetoprim) | 40/200 mg diário ou 3x/semana |
| Nitrofurantoína | 50 ou 100 mg diário |
| Cefaclor | 250 mg diário |
| Norfloxacina | 200 mg diário |
| Ciprofloxacina | 250 mg diário |
| Fosfomicina | 3g a cada 10 dias |

A prova deste tipo de resistências tem vindo a ser reportada em estudos um pouco por todo o mundo. Num desses estudos, denominado “*The ECO·SENS Project*” (9) foi determinada a resistência aos antibióticos por parte de alguns agentes patogénicos, que provocam ITU, em 16 países Europeus e Canadá, tendo sido recolhida informação sobre o perfil de resistências de 2478 isolados de *E. coli*. Os resultados apresentados não foram animadores, em particular para Portugal e Espanha, onde foram obtidos os maiores níveis de resistências, nomeadamente a quinolonas (9). A frequência da resistência microbiana, bem como a multirresistência em *E. coli* mostra uma variabilidade geográfica, sendo maior na Europa do Sul, particularmente Espanha e Portugal, comparativamente à Europa do Norte (9). O número máximo de resistências encontradas num isolado foi 9, um deles provinha de Espanha e dois de Portugal (9). Encontraram-se 15 estirpes resistentes a ciprofloxacina e gentamicina, oito de Espanha, três de Portugal e uma de Bélgica, Alemanha, Grécia e Suíça

(9). Em resumo, o projeto *ECO-SENS* permitiu confirmar o aumento da resistência da *E. coli* nomeadamente a ampicilina e sulfametoxazol+trimetoprim, permitindo ainda concluir que, na globalidade, estas resistências são as mais comuns (9).

Para além deste estudo a nível internacional, pensei ser bastante interessante e enriquecedor para esta monografia, a recolha de dados acerca deste mesmo tema, porém desta vez, numa realidade mais próxima. Assim sendo, durante o meu estágio em Farmácia Hospitalar, e, com a cedência do serviço de Patologia Clínica, tive a oportunidade de recolher dados acerca dos agentes microbianos associados a infeções ocorridas em doentes assistidos no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra no ano de 2012 e respetivos perfis de resistência microbiana. Dos registos recolhidos, pude perceber que o agente patogénico mais detetado em amostras de urina diz respeito à *E. coli* (43,2 %), seguida da *Klebsiella spp* (15,7 %), *Pseudomonas aeruginosa* (8 %), *Enterococcus faecalis* (5,6 %), *Acinobacter baumannii* (5,4 %), *Proteus spp* (4,6 %). O esquema apresentado na figura 2 refere-se ao perfil de resistências aos antibióticos por parte da *E. coli*, o agente mais proeminente nesta análise, entre 2009 e 2012, onde se poderá verificar que os valores mais acentuados estão relacionados com a ampicilina, cefazolina e cotrimoxazol.

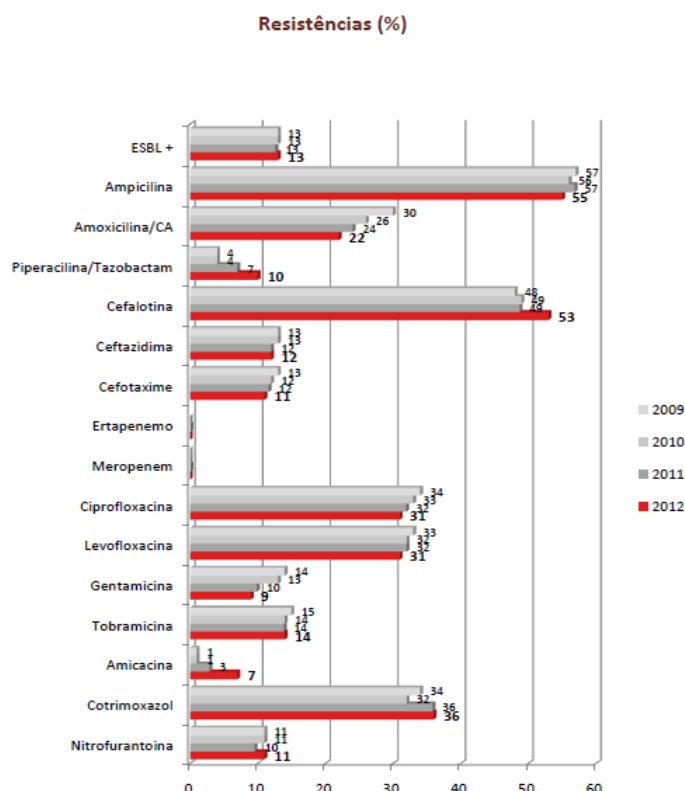


Figura 2 - Perfil de resistências a antibióticos, por parte da *E. coli* entre 2009-2012, no CHUC, sendo 2790 o número total de isolados testados.

Este último ponto funcionou como o meu motor de partida para esta monografia, ou seja, se existem algumas falhas de tratamento devido às resistências bacterianas e, se para a

realização do tratamento profilático se recorre aos antibióticos, podendo daí derivar maiores níveis de resistências, como se poderá então contornar esta situação ou que estratégias se podem seguir como alternativa? Seria ou não benéfica uma mudança de atitude no esquema terapêutico de infecções não complicadas?

2. Utilização de vacinas para profilaxia em ITU

Como resposta à questão anterior, surge de forma empírica, há cerca de 40 anos, o conceito da administração de lisados bacterianos como forma de estimular o sistema imune do hospedeiro (2). É nesses lisados bacterianos, que se pode encontrar, entre diversos componentes, os fatores de virulência das bactérias, responsáveis pela sua patogenicidade. A administração destes lisados, teoricamente, permitirá que, após um posterior contacto com o agente etiológico da infeção, o sistema imunitário do hospedeiro atue mais rápido e de forma mais robusta na erradicação do agente invasor, sendo, neste caso, a bactéria responsável pela infeção urinária (2).

Contudo, nesta época, os conhecimentos sobre os mecanismos imunes envolvidos ainda não estavam totalmente elucidados (2). Hoje, à luz dos novos conhecimentos sobre a bactéria e seus mecanismos de invasão, é permitido o desenvolvimento dessas vacinas imunoestimulantes, aperfeiçoando-as cada vez mais, face às novas tecnologias disponíveis (2).

A possibilidade de uma abordagem alternativa, com a utilização de vacinas produzidas a partir de bactérias inativadas ou componentes estruturais desses microorganismos, como é o caso de fatores de virulência, devido à sua importância na génese da infeção, é uma realidade palpável, tendo a vantagem de ser um processo que atua por uma via natural, evitando os problemas relacionados com o aumento das taxas de resistências bacterianas inerentes com a toma de antibióticos, diminuindo conseqüentemente o impacto social e custos de saúde associados da UPEC na ITU. Além de que, muitas delas já confirmaram com resultados observados experimentalmente, em estudos clínicos controlados, a redução dos episódios de recorrência, sem efeitos colaterais significativos.

Numa ITU estão incluídas respostas imunes inatas e adaptativas (10). Para entender melhor o conceito de imunidade associado a este tipo de vacinas, primeiro terei de referir como se dá o reconhecimento da bactéria pelo sistema do hospedeiro.

Quando o microorganismo invasor alcança uma barreira física, tal como o caso do epitélio que recobre a vagina e o trato urinário, este é reconhecido pelas suas estruturas moleculares conservadas (PAMPs ou *pathogen-associated molecular patterns*) através de

recetores membranares (designados por PRRs ou *pattern recognition receptors*, incluindo os da classe *Toll-like receptors*) presentes nas células epiteliais e em células dendríticas do sistema imune inato que as reconhecem e iniciam a cascata de ativação da resposta imune neste local com a produção de péptidos antimicrobianos, secreção de citocinas proinflamatórias pelo urotélio, que resulta no recrutamento e infiltração de neutrófilos para o lúmen da bexiga e estimulação de células apresentadoras de antígenos (como células dendríticas) para os tecidos linfoides adjacentes (10, 11). Isto acontece, pois associado à mucosa do trato urogenital, podem-se encontrar agregados linfoides na camada basal, onde estão presentes as células do sistema imune inato como macrófagos e células dendríticas. Estas últimas realizam a ponte entre o sistema imune inato e o adaptativo.

Em alguns casos, a bactéria consegue subverter a resposta imune inata, evadindo o reconhecimento desses PAMPs, iniciando a resposta imune adaptativa (11). A sua eficácia está dependente da interação entre três tipos celulares: células apresentadoras de antígenos, linfócitos T e linfócitos B (2). As primeiras são capazes de capturar, processar e apresentar o antígeno às células T, para reconhecimento pelo seu recetor celular de superfície (2). Os recetores de superfície das células B poderão reconhecer diretamente o antígeno, levando à produção de células plasmáticas capazes de secretar anticorpos (2). Esses anticorpos estão envolvidos na prevenção ou contenção inicial da infeção (2).

Devido à particularidade no reconhecimento do antígeno, o alvo ideal com vista ao desenvolvimento de vacinas deverá ser exposto à superfície da bactéria, de modo a que sejam acessíveis às imunoglobulinas circulantes (12). Por esta razão, as fímbrias ou outras moléculas que se encontram à superfície tornam-se um objeto de estudo com grande potencialidade para o desenvolvimento de vacinas.

2.1. Urovac[®] (Via Intravaginal)

Urovac[®] (Solco-Basel, Suíça) será a primeira vacina a referir, tendo esta vindo a ser testada e reformulada ao longo dos anos. A primeira referência a esta vacina surge no ano de 1987 num estudo conduzido por Grischke EM et al., onde foram envolvidas mulheres voluntárias com historial de ITU recorrentes, a quem foi administrada esta vacina via intramuscular (1).

Mais tarde, em ensaios posteriores, viria a ser reformulada e desta vez, o objetivo foi testar a sua eficácia na mucosa vaginal, sendo agora aplicada como um óvulo vaginal (1). Esta modificação da formulação do lisado bacteriano foi fundamental, uma vez que por esta via

(vaginal), se obtém, em teoria, a vantagem de induzir IgA no trato urogenital, reduzindo desde logo uma potencial colonização bacteriana da vagina e da bexiga com as estirpes uropatogénicas que fazem parte da composição do lisado bacteriano (13). A produção de IgA na mucosa contribui para a proteção contra esta infeção, como irei desenvolver mais adiante, pois esta imunoglobulina tem como função o “patrulhamento” das bordas epiteliais e é encontrada de forma predominante nas secreções do organismo, incluindo as vaginais.

Devido ao facto das UTIs serem causadas por um largo espetro de microorganismos, é compreensível que surjam vacinas multivalentes compostas por várias estirpes. Esta não é exceção e é composta por 10 estirpes uropatogénicas inativadas: 6 estirpes *Escherichia coli* e 1 estirpe de *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* e de *Enterococcus faecalis*, numa base de polietilenoglicol (13).

Na realidade, foram realizados dois ensaios clínicos distintos de Fase II para demonstrar a eficácia desta via, sendo que o segundo teve como objetivo determinar se o período livre de infeção poderia ser prolongado, administrando portanto, doses adicionais de vacina ao longo do tempo, para concluir se estas poderiam prolongar a imunidade da vacina até um período de 6 meses (1, 13). Foram avaliadas um total de 75 mulheres, num estudo duplamente cego, controlado por placebo, em que todas elas tinham em comum a ocorrência de 3 ou mais ITU no ano anterior (13). Cada voluntária começou por receber 3 doses iniciais de óvulos, correspondendo uma dose a cada semana, seguido de 3 óvulos, com intervalo de um mês entre cada um (figura 3) (13).

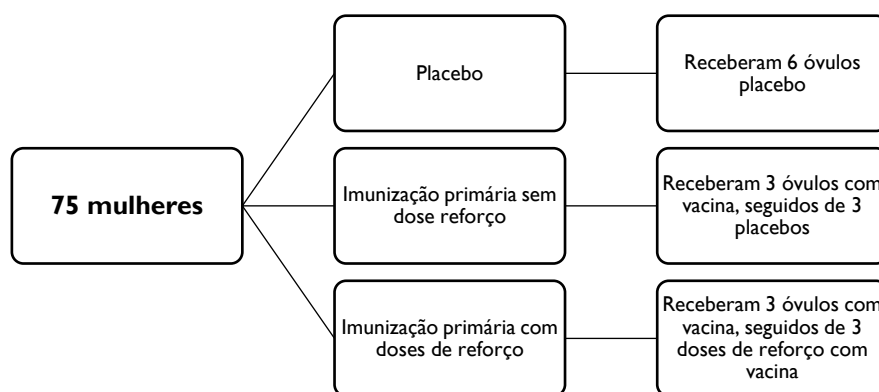


Figura 3 - Esquema de vacinação de Urovac® (Adaptado da referência 13)

Para avaliação da eficácia, foram colhidas e avaliadas amostras de urina e secreções vaginais antes do estudo e às 2, 6, 10, 14, 18 e 22 semanas após a aplicação do primeiro óvulo e quantificados os níveis de anticorpos anti-*E. coli* (13). Como meio de comparação

foram ainda incluídos os seguintes *endpoints*: aparecimento da primeira ITU depois do começo do tratamento e proporção de pacientes com nenhuma infeção reportada no final do estudo (13).

A diferença mais substancial que os autores puderam verificar está relacionado com as taxas de reinfeção nas doentes do grupo controlo comparando com as que receberam doses de reforço, demonstrando a eficácia da vacina em ITUr (13). O resultado das taxas livres de infeção foi de 16,7 % para grupo placebo, 25 % para vacinação primária sem reforço e de 46 % para a vacinação primária com doses de reforço (13). Este resultado corrobora as expectativas de que a vacinação primária com doses de reforço é mais eficaz, promovendo uma proteção mais duradoura do que somente uma vacinação primária sem doses reforço (13).

No total de infeções, 26 foram devidas a *E. coli* e outras 22 devidas a outras bactérias (13). Foi então avaliada separadamente a eficácia da vacina contra ITU causadas apenas por estirpes de *E. coli*, ao qual se concluiu que também havia uma grande diferença entre o grupo vacinação primária com doses de reforço e grupo placebo, se bem que a proporção de pacientes que desenvolveu infeção no grupo vacinação primária sem reforço também adquiriu a sua primeira ITU muito mais lentamente que o grupo placebo (13). Assim sendo, o resultado das taxas livres de infeção foi de 30 % para grupo placebo, 57 % para vacinação primária sem reforço e de 72,5 % para a vacinação primária com doses de reforço (1, 13).

Os anticorpos anti-*E. coli* na urina aumentaram ao longo do tempo apenas em algumas pacientes, sendo que as diferenças entre os vários grupos de tratamento não foi significativo (1, 13). Os dados acerca dos efeitos adversos demonstram a ocorrência de sensação de ardor local, náuseas, sangramento ou *rash* vaginal em algumas mulheres, embora com expressão muito reduzida (1, 13). Pelo que foi apresentado no estudo, pode-se levar a concluir que a vacina Urovac[®] administrada sob forma de óvulo vaginal poderá ser eficaz na redução da incidência de ITU provocadas por estirpes de *E. coli* uropatogénica em mulheres suscetíveis e que a vacinação primária com doses de reforço traduz, sem dúvida e é a melhor opção de modo a prolongar o tempo livre de infeção (13).

2.2. Uro-Vaxom[®] (Via Oral)

Uro-Vaxom/OM-89 (OM Pharma, Suíça) é o único imunoestimulante que se encontra comercializado em Portugal, entre todos os referidos. Esta é uma vacina bacteriana oral que

atua estimulando as defesas naturais do organismo, estando indicado na prevenção das infeções recorrentes das vias urinárias, como descrito no seu RCM (14).

Consiste em cápsulas contendo um extrato (lisado) bacteriano liofilizado constituído por 18 estirpes de UPEC e que é administrado via oral durante alguns meses (1). Este imunoestimulante atua por vários mecanismos, aumentando a resposta imune inata bem como a adaptativa humoral e celular, pelo facto de estimular a produção de fator de necrose tumoral α (TNF- α), interferão γ (IFN- γ) e interleucinas 2 e 6 (IL-2 e IL-6) por monócitos presentes no sangue periférico, além de estimular os linfócitos B, a produção de anticorpos contra *E. coli* e a atividade fagocítica dos macrófagos e células natural killer (NK), no foco da infeção (15).

A eficácia deste imunoestimulante foi testada em vários ensaios, controlados por placebo, sofrendo alterações na formulação ao longo do tempo (4). Os primeiros estudos realizados consistiram na toma de uma cápsula diária durante 3 meses, seguido de 3 meses de observação (1). O primeiro estudo referenciado teve lugar no ano de 1986, por Frey et al., e, desde aí muitos outros se seguiram. Tammen, Schulman et al., Magasi et al. elaboraram protocolos semelhantes, demonstrando a eficácia do tratamento com extrato de *E. coli* em relação ao grupo controlo (15). As recorrências diminuíram significativamente por um período de 6 meses, embora a taxa de recorrência tenha variado nos diferentes estudos (15).

Enquanto que os estudos anteriores tentaram demonstrar a sua eficácia por um período de 6 meses, Bauer et al., realizou não só o maior estudo até à data, como na sua génese estava a investigação de um efeito preventivo com o mesmo extrato, a longo prazo, mais concretamente por um período de 12 meses (16). Um total de 454 mulheres foram envolvidas, 232 no grupo de tratamento e 222 no grupo placebo, num estudo internacional, duplamente cego, randomizado (16). Da sua história clínica constavam pelo menos 3 ITU documentadas no ano anterior, sinais clínicos de UTI aguda persistindo pelo menos 2 dias, e bacteriúria $>10^3$ (16). O desenho do estudo foi um pouco diferente dos anteriores, pois este tratamento consiste na toma diária de uma cápsula durante 3 meses, seguido de 3 meses sem tratamento e posteriormente, tomando uma dose de reforço nos 10 primeiros dias de Julho, Agosto e Setembro, sendo observados os seus resultados por um período total de 12 meses (1, 16).

Com os dados recolhidos verificou-se que as pacientes que tomaram Uro-Vaxom[®] experienciaram um número significativamente menor de recorrências nos 12 meses seguintes do que as do grupo placebo (redução em 34 %) (16). No grupo de tratamento, 93

pacientes (40,3 %) tiveram 185 recorrências comparando com 276 recorrências em 122 pacientes no grupo placebo (55 %) (16). A diminuição acentuada dos sintomas associados (disúria, polaciúria, ardor durante a micção) também foi registada, coincidindo com os resultados de estudos anteriores (1,16).

Uma das suas mais-valias como tratamento é o facto de se ter verificado, nos diversos estudos realizados, que este foi bem tolerado, tendo sido registados poucos efeitos adversos, sendo o mais comum, alterações gastrointestinais (diarreias, náuseas e dores abdominais), como também é indicado no seu RCM (1,14).

2.3. Uromune® (Via Sublingual)

A vacina mais recente que os autores apresentam, Uromune® (Immunotek, Madrid), consiste numa suspensão de células bacterianas inteiras inativadas de estirpes selecionadas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* e *Enterococcus faecalis*. Esta formulação de aplicação sublingual é produzida e está disponível comercialmente em Espanha (17).

Este estudo é particularmente interessante, uma vez que para avaliar a eficácia do uso desta vacina sublingual na prevenção de ITUr, os autores recorreram a uma comparação direta com a toma profilática de um antibiótico, sulfametoxazol/trimetoprim (17).

Neste estudo multicêntrico observacional retrospectivo, foram recolhidos os históricos clínicos de 319 mulheres que apresentam os critérios de inclusão: pelo menos dois episódios de ITU nos últimos 6 meses ou três nos últimos 12 meses (17).

Do universo em estudo, 159 mulheres receberam tratamento profilático com Uromune® durante 3 meses (grupo A) e 160 mulheres com sulfametoxazol/trimetoprim (200/40 mg/dia) durante 6 meses (grupo B) (17).

Importa referir que a população, nos dois grupos em questão, como em todos os outros estudos citados, apresentavam características homogéneas em relação a idade, estado hormonal, atividade sexual, tratamento usual, etnia e hábitos dietéticos (17). Para além disso, demonstravam ser similares em termos de tempo de evolução de ITU, o número médio de ITU e uroculturas positivas (UC+) nos últimos 6 meses (17). Estes fatores são importantes uma vez que é necessário manter ao máximo as características aproximadas de modo que a comparação seja a mais fidedigna e correta possível.

Os parâmetros selecionados para a comparação em estudo foram: número de ITU, tempo de evolução de UTUr antes do início do tratamento, número de UC+ antes do início

do tratamento, aos 3, 9 e 15 meses (17). Os referentes resultados encontram-se esquematizados na tabela seguinte:

Tabela 3 – Comparação dos resultados entre os dois grupos em estudo. (Adaptada da referência 17)

| | Número de ITU (média de infeções) | | | Uroculturas positivas (média de UC+) | | | Nº de doentes que não sofreram nenhuma UTI | | |
|---------|--------------------------------------|------|------|---|------|------|---|----|----|
| | 3 | 9 | 15 | 3 | 9 | 15 | 3 | 9 | 15 |
| Grupo A | 0,36 | 0,72 | 1,60 | 0,5 | 1,06 | 1,34 | 101 | 90 | 55 |
| Grupo B | 1,6 | 3,71 | 6,19 | 1,6 | 5,01 | 7,64 | 9 | 4 | 0 |

Analisando os dados, no grupo A verificou-se uma significativa redução no número de infeções e no número de UC+ comparativamente ao grupo B. Além disso, o grupo de tratamento também contou com um maior número de doentes que não sofreram nenhuma infeção. Na globalidade, a melhoria no número de ITU nos doentes do grupo A quando comparado ao grupo B foi de 75 % aos 3 meses, 86 % aos 9 meses e 77 % aos 15 meses (17). Além disso, não foram reportados efeitos adversos locais ou sistémicos com Uromune® (17).

Confirma-se deste modo, que a vacina sublingual manteve o efeito pretendido por um período de 9 a 15 meses. Neste estudo não só se comprova a eficácia e segurança deste imunoestimulante como se comprova que este constitui uma alternativa aos antibióticos usuais, como meio de evitar as resistências bacterianas, indo ao encontro das recomendações das autoridades de saúde. Assim, o estudo demonstra que Uromune® é mais eficaz que a toma de sulfametoxazol/trimetoprim na redução da frequência, duração, severidade e custos associados de UTI (17). Porém, são indispensáveis mais estudos prospetivos para confirmar de uma forma mais robusta o impacto clínico subjacente (17).

2.4. Vacinas em fase de estudos pré-clínicos (Via Intranasal)

Como referido inicialmente, existe uma grande potencialidade na escolha de vários fatores de virulência das bactérias, que poderão ser utilizados como alvo em vacinas. Por isso mesmo, começo por passar a citar algumas das vacinas que se encontram em fase de desenvolvimento, mas que acabam por contribuir para o progresso desta temática.

Vacina intranasal utilizando como antígeno, recetores de ferro da E. coli

Um estudo realizado por Alteri et al. utilizou um conjunto de proteínas recetoras de superfície envolvidas na captação de ferro pela bactéria, sinalizadas como potenciais candidatas para o desenvolvimento de vacinas em ITU não complicadas (18). Essa estratégia tinha capacidades para ter sucesso, uma vez entendido o mecanismo associado. A aquisição de ferro pela UPEC é uma estratégia crítica requerida pela bactéria para que esta consiga causar infecção, pois este é essencial para os seus processos celulares (7).

As seis proteínas antigénicas identificadas foram purificadas e ligadas à toxina da cólera (TC), como adjuvante (18). Um grupo de ratinhos foi inoculado intranasalmente com o antígeno+TC e outro grupo (controlo) somente com a toxina da cólera (18). Uma primeira imunização ocorreu no dia 0 com doses de reforço nos dias 7 e 14 (2, 18). Os animais foram inoculados com uma estirpe de UPEC e a proteção foi avaliada 48 h depois da infeção provocada experimentalmente, determinando para isso, as unidades formadoras de colónias (CFUs) na urina, bexiga e rins (18). Dos 6 antígenos candidatos, em 3 obtiveram-se bons resultados, tendo sido observada proteção contra a infeção, indicado pela diminuição na taxa de CFUs (18).

Avaliou-se igualmente a resposta imune inata e humoral específica gerada, comparando o grupo vacinado (15 ratinhos) e grupo controlo (20 ratinhos). Para avaliação da resposta inata, mediu-se o nível de secreção de citocinas pró-inflamatórias (INF- γ e IL-17) no sobrenadante da cultura de esplenócitos provenientes dos ratinhos do grupo teste e controlo, após inoculação destas células com o antígeno. Verificou-se que as culturas celulares provenientes de ratinhos inoculados com antígeno ligado à TC registaram maiores níveis destas citocinas, comparando com os esplenócitos dos ratinhos inoculados apenas com a TC (18). No entanto, não foi possível estabelecer uma correlação entre a produção de citocinas e a redução de CFUs após a indução da infeção experimental (18).

Para avaliar a resposta humoral no primeiro foco de infeção, mucosa da bexiga, foram medidos os níveis de antígeno-específico IgA na urina (18). Verificou-se que os ratinhos que tiveram menor colonização na bexiga depois da vacinação eram simultaneamente os que apresentavam os títulos mais elevados de IgA, o que leva a crer a existência de uma correlação entre a quantidade de IgA específica na urina e a proteção de infeção por *E.coli* (18).

A avaliação da resposta humoral sistémica compreendeu a medição de níveis de anticorpos específicos no soro, gerados nos ratos vacinados, comparado com o grupo

controle, demonstrando que os ratos vacinados geravam anticorpos específicos IgM e IgG em resposta a imunização intranasal com antígenos (18).

Em suma, a imunização intranasal com três das proteínas recetoras de ferro era suficiente para conferir imunidade, gerando uma resposta específica humoral, produção de antígenos específicos IL-17 e IFN- γ e promove proteção significativa a nível experimental de infecções por UPEC (18).

Vacina intranasal utilizando como antígeno, fímbrias de P. mirabilis

De seguida, irei citar alguns dos avanços que estão a ser realizados em relação a uma das bactérias que também se inclui no vasto quadro de agentes indutores de ITU, *Proteus mirabilis*. Decidi incluir esta e não outra do vasto leque de bactérias que podem causar ITU, uma vez que esta tem algumas particularidades interessantes pois, apesar de causar cistite e pielonefrite, particularmente em doentes com cateteres urinários ou anormalidades anatómicas do trato urinário, é muitas das vezes o agente associado a urolitíase, complicando ainda mais o estado desse mesmo sistema (19).

A formação de cálculos deve-se à atividade de uma urease bacteriana, que hidrolisa ureia em amónia, levando ao aumento local do pH, causando uma subsequente precipitação de cristais de fosfato de magnésio e fosfato de cálcio (20). A formação de cálculos resulta da agregação desses cristais à superfície do epitélio e complica a infeção por várias razões: 1 – a bactéria *P. mirabilis* fica retida nos agregados, sendo que a sua eliminação fica dependente do uso de antibióticos; 2 – os cálculos formam um nicho propício para o desenvolvimento de outras bactérias causadoras de ITU; 3 – esses mesmos cálculos podem obstruir o fluxo urinário (20).

Considerando o que acabei de referenciar, seria de imaginar que o mais lógico consistiria na eleição da urease como alvo para prevenir a formação de cálculos. Porém, uma vez que a urease se localiza dentro da célula bacteriana, no citoplasma, e não exposta à superfície da bactéria, a sua inativação torna-se uma tarefa muito complicada (20).

A colonização requer movimento por parte da bactéria para o seu nicho, adesão a recetores específicos e sobrevivência no trato urinário, em que as fímbrias são agentes essenciais neste percurso. Pelo menos, 4 tipos de fímbrias foram identificadas nesta espécie incluindo: “mannose – resistant *Proteus*-like fimbriae” ou fímbria (MR/P), “*P. mirabilis* fimbriae” ou (PMF), “ambiente-temperature fimbriae” ou (ATF) e a “nonagglutinating fimbriae” ou (NAF) (19). A fímbria MR/P é expressa na superfície da bactéria e, sendo um fator de elevada importância para a colonização da bexiga, representa um candidato ao

desenvolvimento de uma vacina para prevenção ITU por *P. mirabilis*. Além disso, esta bactéria promove formação de biofilmes em materiais de cateteres em que a fímbria MR/P está intimamente envolvida no processo (19). Para tal, devido à sua patogenicidade, seria de elevada importância que se desenvolvesse uma vacinação profilática que pudesse vir a ser útil em doentes específicos (19).

Foi avaliada a eficácia da administração de diferentes vacinas formadas por: *P. mirabilis* inativada, fímbria MR/P, adesina MrpH (um fragmento da fímbria MR/P) ou seção terminal da adesina MrpH, responsável pela propriedade adesiva ao epitélio, unida a uma proteína MBP que seria responsável por manter a estrutura flexível e adequada dessa mesma adesina (20). Paralelamente, foram examinadas quatro vias possíveis de administração: subcutânea, intranasal, oral e transuretral, em ratinhos (20).

Os resultados indicaram que a vacinação com a proteína de fusão MBP-MrpH via intranasal conseguiu os melhores resultados, protegendo 75 % dos ratinhos de uma infecção por *P. mirabilis*. Paralelamente, os mesmos animais apresentaram elevados títulos de anticorpos específicos no soro, urina, bexiga, secreções vaginais e bÍlis (20). As vacinas por via subcutânea induziram a maior resposta IgG no soro mas não resultaram necessariamente numa proteção mais efetiva contra a infecção. Este resultado é consistente com os resultados anteriores, onde se observou que níveis de IgG elevados no soro não estavam diretamente correlacionados com proteção da infecção (19), uma vez que o foco da infecção se localiza na mucosa.

Posteriormente, foi experimentada uma vacina utilizando a *Salmonella Typhimurium* viva atenuada como vetor para a entrega do antigénio, proteína MrpA, ao sistema imunitário (21). Esta vacina consiste na introdução de um gene que codifica a proteína MrpA (proteína estrutural da fímbria MR/P), como uma proteína de fusão com um fragmento da toxina do tétano, num plasmídeo que é inserido na *Salmonella Typhimurium*. Deste modo, esta bactéria poderá expressar o antigénio pretendido no local (21).

A vacina foi testada em ratinhos, de modo a verificar a sua eficácia contra infecções do trato urinário provocadas por *P. mirabilis* (grupo teste) contra um grupo controlo em que o vetor vivo atenuado utilizado transportava um plasmídeo sem a inserção do gene responsável pela expressão da proteína antigénica e outro grupo em que foram inoculados apenas com PBS (a solução tampão utilizada em todas as suspensões) (21).

Depois de duas imunizações intranasais aos 0 e 55 dias, foram avaliados os níveis de anticorpos específicos anti-MrpA IgA e anti-MrpA IgG no soro e urina (21). O grupo de

ratinhos imunizados com a vacina apresentou um título elevado de anticorpos específicos no soro e um número significativamente menor de CFU nos rins e bexiga em comparação com o número encontrado nos ratinhos dos restantes grupos (21). Este resultado indica que a expressão de MprA pela *Salmonella Typhimurium* conferiu uma proteção efetiva contra a infecção experimental com *P. mirabilis* (21). Este estudo vem complementar outras abordagens que já tinham sido realizadas com sucesso no controlo de ITU provocada por esta bactéria, baseadas na vacinação com subunidades de fímbrias MR/P utilizando diferentes sistemas de entrega, embora os estudos demonstrem diferentes graus na proteção conferida (21).

3. Mecanismo de vacinação através das mucosas

Nesta monografia, para a mesma indicação, incluí diferentes vacinas com vias de administração distintas: oral, intravaginal, sublingual, intranasal. Numa breve análise, pude constatar que todas as vacinas apresentadas poderiam diferir na via de administração, mas que todas elas apresentam grandes potencialidades como protetoras das vias urinárias em caso de infeções. Foi para demonstrar isso mesmo que resolvi incluí-las.

As superfícies mucosas constituem as maiores portas de entrada e atuam como primeira linha de defesa contra microorganismos patogénicos como vírus, parasitas, alergénios, e, como mais concretamente neste caso, bactérias (22).

As vacinas injetáveis conferem proteção contra infeções ou doenças, induzindo anticorpos no soro, em vez de estimular a resposta imune nas mucosas, que parece ser eficientemente alcançada com administração de vacinas nessas superfícies (22). Uma vez que se trata de uma infeção do trato urinário, a via de entrada da bactéria dá-se pela uretra e vai ascendendo até outros órgãos, para os poder colonizar (1). Por conseguinte, neste tipo de infeção, a via mais eficaz será aquela que possa induzir anticorpos específicos no epitélio urinário.

A vacinação pelas mucosas, ao contrário das vacinas injetáveis, tem particular interesse, uma vez que podem induzir resposta imune, nomeadamente secreção de IgA, mesmo na porta de entrada dos patogénios, prevenindo assim a infeção (23).

O antígeno administrado, ao chegar ao epitélio indutor, é transportado para o interior através de células epiteliais ou células especializadas para o efeito (células M), que se encontram localizadas nos locais indutores da mucosa (24). De seguida, podem ser capturados por células apresentadoras de antígenos, como as células dendríticas, células B ou macrófagos, e, apresentadas às células T presentes nesses agregados de tecido linfóide

(24). Em contrapartida, alguns antígenos poderão também ser processados e apresentados diretamente pelas células epiteliais (24). As células B e T ativadas, deixam o local onde encontraram o antígeno, são transportadas através da linfa, entram para a circulação, onde são libertadas interleucinas que estimulam as células B a diferenciarem-se em plasmócitos cuja função primária é a produção de anticorpos à sua superfície e migram para outros locais onde se vão diferenciar em células de memória ou efetoras (24).

Nas células epiteliais do trato urogenital, existe um recetor basolateral, no qual se liga a IgA, produzida pelos plasmócitos. Este recetor consiste numa glicoproteína transmembranar localizada nas células epiteliais, que internaliza a IgA polimérica e, assim, esta vai receber na sua estrutura um componente secretor, passando a designar-se slgA, que é transportada até a face apical da célula e é então excretada, exercendo a sua ação no foco da infeção.

Embora todo o sistema esteja interligado e, quando há indução de imunidade numa mucosa específica, o que se verifica é o aparecimento de anticorpos específicos em outras mais distantes, existe, porém, um certo grau de compartimentação dentro do próprio “sistema imune comum das mucosas” (24).

A disseminação de células dos locais indutivos até ao local efetor, parece estar relacionada com o reconhecimento de integrinas específicas, que se localizam na superfície das células efetoras e recetores complementares específicos, localizados nas células epiteliais da mucosa (foco da infeção) (24).

Este facto, coloca algumas restrições quanto à via de administração escolhida para poder induzir níveis mais eficazes de resposta no local desejado (24).

Como documentado, a vacinação pela via **intravaginal** induz resposta imune maioritariamente no local de imunização (25). Por essa razão, o estudo apresentado, que consistia na administração de óvulos vaginais como via de administração da vacina, pôde ter resultados positivos, sendo que a bactéria foi impedida de proliferar no foco de infeção (10).

A via **intranasal** induz aumento dos níveis de slgA e IgG na mucosa vaginal, no trato respiratório, mas é menos eficiente no trato digestivo (23, 24). Como demonstram os estudos apresentados, a imunização intranasal com fímbrias mostra ser eficaz na proteção contra ITUr por *P. mirabilis*, em ratinhos, bem como a imunização com recetores de ferro para a *E. coli*, tendo estes estudos margem potencial para ser desenvolvidos e aperfeiçoados no futuro.

A vacinação via **oral** consegue induzir forte resposta IgA no intestino delgado, colon proximal, glândulas mamárias mas é relativamente menos eficiente no trato respiratório e reprodutivo (23, 24).

Por fim, a via **sublingual** tem capacidade para induzir uma robusta resposta imune nas mucosas, nomeadamente no trato urinário, bem como sistémica (23, 24). Por esta razão, tem a vantagem de proporcionar duas frentes de proteção (23). Assim sendo, a superioridade de eficácia de Uromune[®] (sublingual) em relação a Uro-Vaxom[®] (oral), poderá ser explicada devido ao modo como o antigénio é entregue (lisado ou célula inteira inativada) e pela sua via de administração (oral ou sublingual), como referido.

Conclusão

Imunização com antigénios de UPEC consegue estimular uma resposta imune nas mucosas que poderá ser efetiva na prevenção de ITU experimentais. O aumento níveis de anticorpos na urina e no soro estarão correlacionados com reduções da colonização na bexiga e duração da infeção. Com contínuos esforços, estes dados providenciam encorajamento de que uma vacina efetiva contra UPEC possa ser desenvolvida (1).

A seleção da via de administração para a deposição da vacina é baseada em diferentes parâmetros, tendo em conta o local da infeção microorganismo alvo, o tipo e qualidade de resposta imunitária requerida, e, claro, as questões relacionadas com a segurança e eficácia da vacina (25). De acordo com os dados atuais disponíveis, as vias que possibilitam uma maior resposta ao nível de anticorpos na mucosa vaginal, foco da designada infeção, correspondem à via intravaginal, intranasal e sublingual (24), facto que se veio a confirmar pelos resultados demonstrados nos estudos apresentados.

Embora todas estas tenham demonstrado resultados promissores, a proteção contra a infeção a longo termo não foi demonstrada em nenhuma destas preparações, constituindo uma limitação. A comunidade científica reconhece ainda que existe necessidade de identificar mais antigénios que poderão vir ser explorados para o desenvolvimento da vacina contra a UPEC bem como possibilidade de prolongar essa mesma proteção (19). Para além disso, uma das razões para que este esquema terapêutico ainda não seja seguido como primeira linha de tratamento pelas *guidelines* da Associação Europeia de Urologia é por falta de estudos clínicos que comparem diretamente a eficácia da profilaxia *standard* com a profilaxia usando imunoterapia (4).

Mesmo assim, poder-se-á chegar à conclusão de que os dados recolhidos em modelos animais oferecem um encorajamento para o desenvolvimento com sucesso de uma vacina contra a UPEC e *P. mirabilis*, para que no futuro estas possam vir a substituir o esquema de profilaxia que é hoje em dia ocupado pelos antibióticos.

Bibliografia

- (1) BRUMBAUGH, A. R., MOBLEY H.L. - Preventing urinary tract infection: progress toward an effective *Escherichia coli* vaccine. *Expert Rev Vaccines*, 11 (2012) 663-676.
- (2) CARRARO-EDUARDO, J. C., GAVA, I. A. - Use of vaccines for prophylaxis of urinary tract infections. *J. Bras. Nefrol.* 34 (2012) 178-183.
- (3) PEREIRA, S. Prevenção das Infecções Urinárias Recorrentes - Associação Portuguesa de Urologia. *Urologia em Medicina Familiar*. Tema 6 (2012).
- (4) CRUZ, F., DAMBROS, M., NABER, K. G., BAUER, H. W., COZMA, G. - Recurrent Urinary Tract Infections: Uro-Vaxom®, a New Alternative. *European Urology Supplements* 9 (2009) 762-768.
- (5) ROLO, F., PARADA, B., MOREIRA, P. - Cistite não complicada na mulher. *Guia multidisciplinar reconhecido pela Associação Portuguesa de Urologia*. Lisboa, (2008).
- (6) MOURA, A., NICOLAU, A., HOOTON, T., AZEREDO, J. - Antibiotherapy and pathogenesis of uncomplicated UTI: difficult relationships. *J Appl Microbiol.* 106 (2009) 1779-1791.
- (7) WILES, T. J., KULESUS, R. R., MULVEY, M. A. - Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol.* 85 (2008) 11-19.
- (8) NABER, K. G., CHO, Y. H., MATSUMOTO, T., SCHAEFFER, A. - Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infections: a meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 33 (2009) 111-119.
- (9) KAHLMETER, G. - An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. *J Antimicrob Chemother.* 51 (2003) 69-76.
- (10) HAGAN, E. C., MOBLEY, H. L. - Uropathogenic *Escherichia coli* outer membrane antigens expressed during urinary tract infection. *Infect Immun.* 75 (2007) 3941-3949.
- (11) BILIPS, B. K., SCHAEFFER, A. J., KLUMPP, D. J. - Molecular basis of uropathogenic *Escherichia coli* evasion of the innate immune response in the bladder. *Infect Immun.* 76 (2008) 3891-3900.
- (12) BAUER, H. W., SHAMS, H., BAUER, R. M. - Vaccination against urinary tract infections caused by *E. coli*. *Advances in Bioscience and Biotechnology.* 4 (2013) 487-492.
- (13) HOPKINS, W. J., ELKAHWAJI, J., BEIERLE, L. M., LEVERSON, G. E., UEHLING, D. - Vaginal mucosal vaccine for recurrent urinary tract infections in women: results of a phase 2 clinical trial. *J Urol.* 177 (2007) 1349-1353.
- (14) RESUMO DAS CARATERÍSTICAS DO MEDICAMENTO, *Uro-Vaxom®*. [Acedido a 6-06-2014]. Disponível na internet: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=8920&tipo_doc=rcm

- (15) HA, U. S., CHO, Y. H. - Immunostimulation with Escherichia coli extract: prevention of recurrent urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 31 (2008) S63-67.
- (16) BAUER, H. W., ALLOUSSI, S., EGGER, G., BLUMLEIN, H. M., COZMA, G., SCHULMAN, C. C. - A long-term, multicenter, double-blind study of an Escherichia coli extract (OM-89) in female patients with recurrent urinary tract infections. *Eur Urol* . 47 (2005)542-548.
- (17) LORENZO-GOMEZ, M. F., PADILLA-FERNÁNDEZ, B., GARCÍA-CRIADO, F. J., MIRÓN-CANELO, J. A., GIL-VICENTE, A., NIETO-HUERTOS, A., SILVA-ABUIN, J. M. - Evaluation of a therapeutic vaccine for the prevention of recurrent urinary tract infections versus prophylactic treatment with antibiotics. *Int Urogynecol J* 24 (2013) 127-134.
- (18) ALTERI, C. J., HAGAN, E. C., SIVICK, K. E., SMITH, S. N., MOBLEY, H. L. T. - Mucosal immunization with iron receptor antigens protects against urinary tract infection. *PLoS Pathog.* 5 (2009).
- (19) ROCHA, S. P., PELAYO, J. S., ELIAS, W. P. - Fimbriae of uropathogenic Proteus mirabilis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 51 (2007)1-7.
- (20) LI, X., LOCKATELL, C. V., JOHNSON, D. E., LANE, M. C., WARREN, J. W., MOBLEY, H. L. T. - Development of an intranasal vaccine to prevent urinary tract infection by Proteus mirabilis. *Infect Immun* 72 (2004) 66-75.
- (21) SCAVONE, P., UMPIÉRREZ, A., MASKELL, D. J., ZUNINO, P. - Nasal immunization with attenuated Salmonella Typhimurium expressing an MrpA-TetC fusion protein significantly reduces Proteus mirabilis colonization in the mouse urinary tract. *J Med Microbiol* 60 (2011) Vol. 60, 899-904.
- (22) CUBURU, N., KWEON, M. N., SONG, J. H., HERVOUET, C., LUCI, C., SUN, J. B., HOFMAN, P., HOLMGREN, J., ANJUÈRE, F., CZERKINSKY, C. - Sublingual immunization induces broad-based systemic and mucosal immune responses in mice. *Vaccine.* 25 (2007) 8598-8610.
- (23) KWEON, M. N. - Sublingual mucosa: A new vaccination route for systemic and mucosal immunity. *Cytokine.* 54 (2011) 1-5.
- (24) HOLMGREN, J., CZERKINSKY, C. - Mucosal immunity and vaccines. *Nat Med.* 11 (2005) S45-53.
- (25) NEGRI, D. R., RICCOMI, A., PINTO, D., VENDETTI, S., ROSSI, A., CICCIONI, R., RUGGIERO, P., GIUDICE, G., MAGISTRIS, M. T. - Persistence of mucosal and systemic immune responses following sublingual immunization. *Vaccine.* 28 (2010) 4175-4180.

Anexos

| Identificação da especialidade farmacêutica | Composição | População alvo | Via de administração - Posologia - Seguimento | R. Imune inata | R. Imune adaptativa | Endpoints | Ref. |
|---|--|--|---|--|--|--|-------------|
| Urovac® | - Vacina inativada: 6 estirpes <i>E. coli</i> e 1 estirpe de <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e de <i>Enterococcus faecalis</i> . | - 75 mulheres (história clínica de 3 ou mais ITU no ano anterior) | - Intravaginal - Grupo placebo; Grupo de imunização primária sem dose reforço; Grupo imunização primária com dose de reforço. - 6 meses | --- | - Anticorpos anti- <i>E. coli</i> na urina aumentaram ao longo do tempo apenas em algumas pacientes, sendo que as diferenças entre os vários grupos de tratamento não foi significativo. | - Taxa livre de infeção: 16,7 % para grupo placebo, 25 % para vacinação primária sem reforço e de 46 % para a vacinação primária com doses de reforço; - Taxas livres de infeção <i>E. coli</i> : 30 % para grupo placebo, 57 % para vacinação primária sem reforço e de 72,5 % para a vacinação primária com doses de reforço. | [1, 13] |
| Uro-Vaxom® | - Lisado bacteriano liofilizado contendo 18 estirpes de UPEC | - 454 mulheres (3 ITU documentadas no ano anterior, sinais clínicos de UTI aguda persistindo pelo menos 2 dias, e bacteriúria >10 ³) | - Oral - Grupo placebo (222); - Grupo tratamento (232) - 12 meses | - Estimulação de TNF- α , IFN- γ , IL-2 e IL-6 por monócitos presentes no sangue periférico e da atividade fagocítica por macrófagos e células NK. | - Produção de anticorpos anti- <i>E. coli</i> . | - Diminuição de sintomas associados; - Número significativamente menor de recorrências nos 12 meses seguintes do que os do grupo placebo (redução em 34 %) - No grupo de tratamento, 93 pacientes (40,3 %) tiveram 185 recorrências comparando com 276 recorrências em 122 pacientes no grupo placebo (55 %) | [1, 15, 16] |
| Uromune® | - Suspensão de células bacterianas inteiras inativadas de estirpes selecionadas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus vulgaris</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> . | - 319 mulheres (pelo menos dois episódios de ITU nos últimos 6 meses ou três nos últimos 12 meses) | - Sublingual - Grupo A: 159 mulheres receberam Uromune®; - Grupo B: 160 mulheres receberam sulfametoazol/trimetoprim - 15 meses | --- | --- | - Na globalidade, a melhoria no número de ITU nos doentes do grupo A quando comparado ao grupo B foi de 75 % aos 3 meses, 86 % aos 9 meses e 77 % aos 15 meses. *(Ver Tabela 3) | [17] |

| Identificação da especialidade farmacêutica | Composição | População alvo | Via de administração - Posologia - Seguimento | R. Imune inata | R. Imune adaptativa | Endpoints | Ref. |
|---|--|--|---|--|--|--|----------------------|
| Vacinação com receptores de ferro da <i>E. coli</i> | <ul style="list-style-type: none"> - Antígeno de uma estirpe de UPEC + TC. | <ul style="list-style-type: none"> - Inoculação em ratinhos | <ul style="list-style-type: none"> - Intranasal - Inoculação em ratinhos com antígeno+TC (grupo teste) e outro grupo somente com TC (grupo controlo). | <ul style="list-style-type: none"> - As culturas celulares provenientes de ratinhos inoculados com antígeno ligado à TC registaram maiores níveis de secreção de citocinas pró-inflamatórias (IFN-γ e IL-17), comparando com os esplenócitos dos ratinhos inoculados apenas com a TC. | <ul style="list-style-type: none"> - Níveis de antígeno-específico IgA na urina: maiores níveis de IgA, menor colonização da bexiga; geravam anticorpos específicos IgM e IgG sistémicos. | <ul style="list-style-type: none"> - Dos 6 antígenos candidatos, 3 obtiveram sucesso experimental na proteção contra a infeção, indicado pela diminuição na taxa de CFUs. | [18] |
| Vacinação com fímbrias de <i>P. mirabilis</i> | <ul style="list-style-type: none"> - Vacinação com a proteína de fusão MBP-MirpH (adesina). - Esta vacina consiste na introdução de um gene que codifica a proteína MirpA (proteína estrutural da fímbria MR/P), como uma proteína de fusão com um fragmento da toxina do tétano, num plasmídeo que é inserido na <i>Salmonella Typhimurium</i>, que servirá de vetor. | <ul style="list-style-type: none"> - Inoculação de ratinhos - Inoculação de ratinhos | <ul style="list-style-type: none"> - Intranasal - Intranasal | <ul style="list-style-type: none"> - ... - ... | <ul style="list-style-type: none"> - Elevados títulos de anticorpos específicos registados no soro, urina, bexiga, secreções vaginais e bilis. - Níveis de IgG específicos no soro mostraram-se aumentados no caso do grupo teste. | <ul style="list-style-type: none"> - Proteção em 75 % dos ratinhos. - Diminuição no número de CFU respectivas nos rins e bexiga em comparação com o número encontrado nos ratinhos dos restantes grupos. | [19, 20] [21] |