

Estudio de la protección pasiva inducida por el suero de vacunados con vax-SPIRAL (Vacuna Antileptospirosis Trivalente) en hámsters frente al reto con cepas virulentas de *Leptospira canicola*, *copenhageni* y *mozdok*

Marta González, Yoandra Rodríguez, Andrés González, Roger Medina, Niurka Batista, Xenia Ferriol, Rolando Ochoa, Morelia Baró, Marlene Armesto, Gustavo Sierra.

Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas y Sueros. Ciudad de La Habana, Cuba.
E-mail: martaglez@finlay.edu.cu

Como parte de los estudios de caracterización de la respuesta inmune inducida en vacunados con vax-SPIRAL (Vacuna Antileptospirosis Trivalente) se vacunaron 109 y 69 voluntarios pertenecientes a la Universidad Agraria y al Centro de Sanidad Agropecuaria respectivamente, pertenecientes al municipio San José de Las Lajas, provincia La Habana. Se realizaron dos muestreos de sangre: antes de la aplicación de la primera dosis (T0) y 21 días después de la segunda dosis (T1). La IgG específica fue medida mediante un ELISA indirecto cuantitativo y su efecto protector se midió mediante un ensayo de protección pasiva en hámster. De acuerdo con el nivel de IgG específica medido por ELISA, se prepararon cuatro mezclas de sueros a evaluar. Entre las 18-24 h de inoculados los sueros, los hámsters se retaron frente a 1 000 -10 000 DL₅₀ de los serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok*, siendo observados durante 14 días. Coeficientes de correlación de 0,94 y 0,97 indicaron una fuerte relación entre el nivel de IgG y protección en el caso de *canicola* y *mozdok* respectivamente, para *copenhageni* se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,83 indicativo de una moderadamente fuerte relación. El nivel de IgG específica medido en el suero de personas expuestas al riesgo natural está relacionado con la protección.

Palabras claves: Leptospirosis, vacunación, protección pasiva, respuesta humoral, *Leptospira canicola*, *Leptospira copenhageni*, *Leptospira mozdok*.

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica caracterizada por un cuadro febril agudo, causada por serovares patógenos de *Leptospira interrogans* (1). Los serovares más comúnmente asociados con esta enfermedad en Cuba, en el momento de iniciarse los estudios encaminados a la producción de la vacuna cubana a partir de cepas autóctonas, eran *canicola*, *copenhageni* y *mozdok* (2), por lo que se decidió su inclusión en la formulación del preparado vacunal, empleando hidróxido de aluminio como adyuvante. Los primeros estudios en humanos demostraron su capacidad inmunogénica mediante ELISA, y protectogénica mediante el ensayo de protección pasiva en el modelo animal hámster Sirio Dorado (3).

Teniendo en cuenta que la inmunidad humoral desempeña un papel importante en la protección contra la leptospirosis (4,5,6), se desarrolló un sistema ELISA para cuantificar la respuesta humoral inducida en vacunados frente a esta vacuna (vax-SPIRAL), el cual usa como antígeno de recubrimiento células inactivadas de los

serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok*. Se trata de un complejo multiantigénico particulado con favorecimiento de las estructuras superficiales proteicas de membrana externa. Se tiene conocimiento en la actualidad de que además del lipopolisacárido (LPS) (7), existen otras biomoléculas de naturaleza proteica, componentes de la membrana externa de *Leptospira*, a las cuales se les ha atribuido la capacidad de inducir una respuesta inmune protectora en animales. Dentro de estas se pueden citar las proteínas OmpL1 (8,9), OmpL2 (8,9), y las lipoproteínas LipL1 (10) y LipL2 (10), las cuales han sido propuestas como componentes importantes de vacunas tanto para animales como para el hombre. Por otra parte se ha demostrado la protección inducida en gerbils (*Meriones unguiculatus*) mediante la inoculación de extractos proteicos, donde se ha observado una protección total contra retos homólogos y una parcial protección cruzada frente al reto heterólogo, mientras que el LPS protege solamente contra el reto homólogo (11). Atendiendo a lo antes expuesto el objetivo de este trabajo es medir mediante ELISA la magnitud de la respuesta IgG (U/mL) y definir si ese suero es capaz de

proteger a los hámsters inmunizados pasivamente frente al reto con 1 000 - 10 000 DL₅₀ de cepas virulentas de los serovares incluidos en la vacuna. Todo esto como parte de los estudios encaminados a buscar posibles correlatos de protección entre los resultados del ELISA y la protección en hámsters.

Materiales y Métodos

Población vacunada: La vacunación se realizó en 109 voluntarios (estudiantes, profesores y trabajadores) de la Universidad Agraria de La Habana (UAH), y 69 trabajadores voluntarios del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), municipio de San José de Las Lajas, provincia La Habana, considerados como personal expuesto al riesgo de contraer la enfermedad, dado su perfil ocupacional.

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN VACUNADA Y SELECCIÓN DE LOS VOLUNTARIOS

Criterios de inclusión

Voluntarios participantes: Adultos entre 18 y 60 años de edad, de ambos sexos, aparentemente sanos con riesgo a enfermarse por leptospirosis. Los requisitos que se observaron para la participación en el estudio fueron:

1. Participación de forma voluntaria.
2. Hombres y mujeres no embarazadas con edades entre 18 a 60 años.

Criterios de exclusión

1. Antecedentes de enfermedades crónicas como: asma bronquial descompensada, cardiopatía isquémica descompensada, hepatopatías y nefropatías graves.
2. Presentar antecedentes de inmunodeficiencias, enfermedades del sistema hematopoyético o tratamiento inmunosupresivo.
3. Haber recibido inmunoglobulina o productos derivados de la sangre en los últimos seis meses.
4. Tener probabilidad sobre el uso de productos derivados de la sangre durante la investigación.
5. Referir hipersensibilidad al timerosal.
6. No participar durante el tiempo que dure la investigación en otros estudios de vacunas o medicamentos.

Vacuna empleada: Vacuna cubana trivalente de células inactivadas y adsorbida en hidróxido de aluminio: vax-SPIRAL (*canicola*, *copenhageni*, *mozdok*). Lote 9009.

Esquema de vacunación: Se aplicaron dos dosis de 0,5 mL por vía intramuscular profunda en el músculo deltoides, con un intervalo de seis semanas entre dosis.

Muestras: Se realizaron dos extracciones de sangre de 10 mL cada una, en la región ante cubital, previa medida de asepsia y antisepsia, la primera antes de la aplicación de la primera dosis (T0) y la segunda 21 días después de la aplicación de la segunda dosis (T1). La sangre se centrifugó a 3000 g durante cinco min (Centrífuga Sanyo). El suero se conservó a -20 °C hasta su utilización.

Evaluación de la respuesta humoral inducida: Los niveles de anticuerpos IgG producidos en respuesta a cada uno de los serovares de la vacuna se evaluaron mediante un ELISA indirecto cuantitativo [en prensa] (12).

Antígeno de recubrimiento: Células inactivadas de los serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok*, ajustados a una concentración de 200 x 10⁶ lept. /mL.

Suero estándar: Mezcla de sueros de individuos vacunados con vax-SPIRAL con altas concentraciones de IgG, al que le fueron asignadas 31 U IgG/mL para *canicola*, 12 U IgG/mL para *copenhageni* y 58 UIgG/mL para *mozdok*.

Fase sólida: Placas de poliestireno de fondo plano (Costar).

Conjugado: anti IgG humano - peroxidasa (Sigma).

Análisis de los resultados: Los valores de absorbancia se transformaron a U/mL con un programa desarrollado por el Centro para el Control de Enfermedades, Atlanta, GA (13).

Se definió como valores bajos de IgG aquellos que se encontraban del punto medio de la curva hacia abajo y como valores altos, los encontrados del punto medio hacia arriba. Para los tres serovares evaluados el criterio de valores bajos se relaciona a continuación: *canicola* < 10 U IgG/mL, *copenhageni* < 4 U IgG/mL y *mozdok* < 22 U IgG/mL.

Modelo animal: Hámster Sirio Dorado del mismo sexo y con un peso promedio de 35–50 g, procedentes del centro suministrador CENPALAB. Se utilizaron un total de 120 animales para el ensayo de Protección Pasiva distribuidos a razón de 10 por caja y 105 animales para el cálculo de la DL₅₀ de las cepas de reto, distribuidos a razón de cinco por caja de Macrolón T3 respectivamente. La atención de los animales se realizó de acuerdo con las normas institucionales establecidas para el cuidado y uso de animales pequeños, según la guía para el cuidado y empleo de los animales de Laboratorio de la Comunidad Económica Europea (14).

Preparación de la dosis de reto (15): Se usaron cepas virulentas de los serovares *canicola*, *copenhageni*, y *mozdok*, cultivadas en medio Tween-Albúmina (16), durante 7 días a una temperatura de 28 °C, con agitación orbital (Zaranda Inford). La dosis de reto fue 0,5 mL de la

dilución 10^{-1} de un cultivo cuya observación al microscopio (lectura de 20 campos) da un promedio de 10–12 leptospiros/campo.

Protección Pasiva (17):

Los hámsters en el ensayo fueron inoculados por vía intraperitoneal (IP) con 1 mL de la mezcla de suero seleccionada. Se inocularon 30 hámsters por muestra (mezcla de suero) inoculada.

Características de las muestras inoculadas en los hámsters del Ensayo de Protección Pasiva

Muestra (mezcla de sueros)	Características de la muestra
M1	Mezcla sueros T0, con niveles de IgG bajos: <i>canicola</i> < 10 U IgG/mL, <i>copenhageni</i> < 4 U IgG/mL y <i>mozdok</i> < 22 U IgG/mL.
M2	Mezcla sueros T0, con niveles de IgG altos: <i>canicola</i> ≥ 10 U IgG/mL, <i>copenhageni</i> ≥ 4 U IgG/mL y <i>mozdok</i> ≥ 22 U IgG/mL.
M3	Mezcla de sueros T1 que no duplicaron el valor inicial de IgG específica.
M4	Mezcla de sueros T1 que duplicaron el valor inicial de IgG específica.

Se mezclaron 32 sueros (1 mL de cada uno) por muestra. La mezcla de sueros se centrifugó a 3000 g durante 10 min y se filtró por Minisart 0,45 µm (Sartorius). Se le realizó nuevamente el ELISA.

Reto: El reto se realizó entre las 18-24 h de aplicado el suero, los animales se observaron durante 14 días y se registraron las muertes.

DL₅₀ (18): Para la definición de la DL₅₀ de cada una de las cepas de reto empleadas, se hicieron diluciones seriadas en un factor de 10 a partir de la dilución de reto hasta 10^{-7} inoculándose 0,5 mL por vía IP por animal y cinco animales por dilución. Los animales fueron observados durante 14 días y se registraron las muertes.

Análisis Estadístico de los Resultados: Se realizó un análisis de regresión lineal considerando como variables los niveles de IgG cuantificados por ELISA y el por ciento de mortalidad en los hámsters en el ensayo de protección pasiva. Estos se realizaron usando el Statgraphic plus para Windows versión 2.1 (19).

Resultados

Las concentraciones de IgG específicas contra estructuras superficiales de cada uno de los serovares, medida por el ELISA, se expresa en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados del ELISA realizado a la mezcla de sueros de los individuos seleccionados para el Ensayo de Protección Pasiva

Muestra	Concentración de IgG U/ mL por serovar		
	<i>canicola</i>	<i>copenhageni</i>	<i>mozdok</i>
M1	8,99	3,56	13,87
M2	24,53	9,13	44,52
M3	39,32	14,20	54,36
M4	45,99	18,88	80,30

Según se aprecia en los resultados obtenidos, los niveles de IgG específicos detectados por ELISA para la mezcla M1 corresponden con los niveles más bajos de los obtenidos. El resto de las muestras evidencia niveles de IgG en grado creciente.

Los resultados sobre el nivel de protección conferido por las mezclas de sueros inoculadas se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados del reto de los hámsters inmunizados pasivamente con mezclas de sueros de personas antes y después de la vacunación con vax-SPIRAL y retos con cepas virulentas de los serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok*

Mezcla de sueros	Serovar de reto (% Mortalidad)		
	<i>canicola</i> (n=10)	<i>copenhageni</i> (n=10)	<i>mozdok</i> (n=10)
M1 ^a	80	100	100
M2 ^b	20	100	60
M3 ^c	0	0	20
M4 ^d	0	20	0

^a Mezcla sueros T0, con niveles de IgG bajos: *canicola* < 10 U IgG/mL, *copenhageni* < 4 U IgG/mL y *mozdok* < 22 U IgG/mL.

^b Mezcla sueros T0, con niveles de IgG altos: *canicola* ≥ 10 U IgG/mL, *copenhageni* ≥ 4 U IgG/mL y *mozdok* ≥ 22 U IgG/mL.

^c Mezcla de sueros T1 que no duplicaron el valor inicial de IgG específica.

^d Mezcla de sueros T1 que duplicaron el valor inicial de IgG específica.

Los resultados de la DL₅₀ evidenciaron mortalidad para los serovares *copenhageni* y *mozdok* hasta la dilución de 10⁻⁵ mientras que para el caso del serovar *canicola* fue hasta la dilución de 10⁻⁴. La DL₅₀ de cada una de las cepas de reto calculada, demostró que esta estuvo entre las 1 000 y 10 000 DL₅₀ para cada uno de los serovares de reto evaluados.

La Tabla 3 muestra los resultados del análisis estadístico.

Tabla 3. Resultados del análisis de regresión lineal entre la respuesta IgG medida por ELISA en voluntarios vacunados con vax-SPIRAL y la protección pasiva inducida en hámsters

Serovar	Pendiente	Término independiente	EE ^a	R ^b	P ^c
<i>canicola</i>	0,41	39,94	6,80	0,94	0,059*
<i>copenhageni</i>	0,11	17,21	4,42	0,84	0,163**
<i>mozdok</i>	0,60	75,28	8,19	0,97	0,030***

^a Error Estándar de la Estimación

^b Coeficiente de Correlación

^c Probabilidad

*Como P < 0,1 existe una relación estadísticamente significativa entre estas dos variables a un nivel confianza del 90%.

** Como P > 0,1 no existe una relación estadísticamente significativa entre estas dos variables a un nivel confianza de 90%.

***Como P < 0,05 existe una relación estadísticamente significativa entre estas dos variables a un nivel confianza del 95%.

El coeficiente de correlación indica para el caso de los serovares *canicola* y *mozdok* una fuerte relación entre estas dos variables, mientras que en el caso de *copenhageni* esta relación es moderadamente fuerte.

Los resultados obtenidos del Error Estándar de la estimación para los tres serovares muestra valores satisfactorios para un ensayo biológico.

Discusión

Los niveles de IgG de 8,99 U/mL para *canicola*, 3,56 para *copenhageni* y 13,87 para *mozdok* (M1, Tabla 1) resultaron no protectogénicos al obtenerse 80-100% en

los hámsters inoculados y retos con las cepas homólogas.

En las dos poblaciones estudiadas se demuestra mediante el ensayo ELISA la presencia de anticuerpos circulantes contra los serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok* en el suero de una parte de los voluntarios, antes de la aplicación de la primera dosis de la vacuna (Tabla 2, M2), lo cual puede estar determinado por el contacto directo con el germen debido al nivel de exposición de estas dos poblaciones, también hay que tener en cuenta que este reconocimiento puede estar influenciado por la reactividad cruzada que existe entre serovares de serogrupos diferentes (11, 20, 21).

El estudio de la seroprevalencia de leptospira mediante la técnica de Microaglutinación (MAT) representa una información necesaria para la caracterización de qué tipo de serovar circula en cada región del país, trabajos semejantes han sido realizados por otros investigadores (22, 23).

El conocimiento de la situación inmunoepidemiológica es de gran importancia para la interpretación de los resultados de los estudios de Inmunogenicidad de vax-SPIRAL ya que otros investigadores han demostrado que la respuesta a la vacuna está influenciada por el nivel de exposición del individuo (en prensa) (24).

El nivel de anticuerpos detectados en la muestra M2 (Tabla 1) fue capaz de proteger a los animales inmunizados pasivamente, y retados con 1 000-10 000 DL₅₀ del serovar *canicola*, habiéndose observado solamente un 20% de mortalidad, lo que habla de la presencia de anticuerpos específicos a este serovar el cual aparece entre los tres de mayor circulación en el país (25,26), sin embargo el nivel de anticuerpos que reaccionaron frente al serovar *copenhageni* no fue capaz de proteger a los hámsters inoculados, pudiendo deberse esto al hecho de que se esté midiendo una reactividad cruzada y no una respuesta específica a este serovar. Es bueno destacar que si bien a principios de la década del 90 este serovar tuvo un lugar importante entre los serovares de mayor circulación (2), en estos momentos no es un serovar de importancia en la epidemiología de la enfermedad (25,26), lo que explicaría los bajos niveles de IgG específicos inferido esto por la no protección observada frente al reto. En el reto frente al serovar *mozdok* solo se logra un 40% de protección en los animales inoculados pudiendo corresponder el nivel de anticuerpos detectados a la presencia de anticuerpos específicos y también a la medición de una reactividad cruzada, ya que el nivel de IgG detectado en este caso triplica el valor que aparece en los sueros del grupo M1. Estos resultados nos permiten inferir que los niveles de anticuerpos detectados por ELISA en la población en estudio antes de la vacunación, son resultado de la exposición a *Leptospira* y que los mismos, son capaces de conferir solo una protección parcial contra algunos serovares y no frente a otros.

Los resultados que aparecen en la Tabla 1 para las muestras M3 y M4 muestran concentraciones de IgG para *canicola* de 39,32 U/mL y 45,99 U/mL, para *copenhageni* de 14,2 U/mL y 18,88 U/mL y de 54,36 U/mL y 80, 3 U/mL para *mozdok*, las cuales demostraron ser protectoras según se observa en los resultados que aparecen en la Tabla 2, lo que corrobora la capacidad inmunogénica y protectora de vax-SPIRAL; resultados semejantes fueron previamente reportados (3). Los resultados del análisis de regresión lineal demostraron la existencia de una correlación entre la magnitud de la respuesta humoral

inducida medida por ELISA y la protección en hámsters, siendo esta menos evidente para el serovar *copenhageni*.

Referencias

1. Midwinter A, Faine S and Adler B. Vaccination of mice with lipopolysaccharide (LPS) and LPS-derived immun-conjugates from *Leptospira interrogans*. *J. Med. Microb.* 1990; 33:199-204.
2. Martínez Sánchez R, Cruz de la Paz R, López Acosta C. Algunas consideraciones sobre el comportamiento de la leptospirosis humana en Cuba. *Rev. Cub. Med. Trop.* 1993; 45(1):32-41.
3. González M, Naranjo M, Rodríguez Y, Bebelagua Y, Oliva R, Batista N, González I, Izquierdo L y Sierra G. Vacuna Antileptosirósica Trivalente adsorbida para uso humano. Primer ensayo evaluativo de reactogenicidad e inmunogenicidad en un grupo de voluntarios sanos. *VacchiMonitor*. 1997; 6(12):2-10.
4. Adler B, Faine S. Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. *Inf. and Immunity*. 1977; 17:67-72
5. Adler B, Faine S. The antibodies involved in the human immune response to leptospiral infection. *J of Med Microb.* 1978; 11:387-400.
6. Adler B, Faine S, Muller H K, Green DE. Maturation of humoral immune response determines the susceptibility of guinea pigs to leptospirosis. *Pathology*. 1980; 12:259-238.
7. Masuzawa T, Nakamura R, Shimizu T, Iwamoto Y, Monte T, and Yanahihara Y. Immunological characteristics of glycolipid antigen of *Leptospira interrogans* serovar lai. *Inf. and Immunity*. 1989; 57:2502-2506
8. Haake, DA. Cloned *Leptospira* outer membrane protein. US patent, 22475. March 1994.
9. Haake, DA. Cloned *Leptospira* outer membrane protein. US patent, 32220. November 1995.
10. Haake, DA and Shang S. *Leptospira* membrane protein. US. Patent, 36355. November 1996
11. Sonrier C, Branger C, Michel V, Ruvoen-Clouet N, Ganiere J P, André Fontaine G. Evidence of cross -protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. *Vaccine*. 2000; 19(1):86-94
12. Xenia FM, Ochoa R, Rodríguez Y, García AM, González M, Padrón JC, Martínez Eric Estrada G , González RB, Sotolongo F. Normalización y validación de ensayos inmunoenzimáticos para la cuantificación de IgG humana antileptosira *canicola*, *copenhageni* y *mozdok*. En Prensa. *VacchiMonitor*.
13. Plikaytis B D, Carlone G M, Turner S H, Gheesling L L, Holder P F. Program ELISA user's manual. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, 1993.
14. Guideline for the care and Use of Laboratory Animals. EEC. Council Directive 86/609, O J L 358, 1987: 1:Dec.

15. Fajardo M, Ortíz B, Chávez A, Gainza N., Izquierdo I, Hernández Y, Labrador I y Alvarez E. Normalización de la DL₅₀ de cepas de *L. interrogans* en el control de la Vacuna Antileptospirosica cubana para uso humano. *Rev Cub Med Trop.* 1998; 50:1-10.
16. Ellinghausen HC, Mc.Cullough WG. Nutrition of *Leptospira pomona* and growth of 13 other serotypes, fractionation of oleic albumin complex and a medium of albumin and polysorbate 80. *Am J Vet Res.* 1965; 26:45-51.
17. Russell F. Bey, and Russell C. Johnson. Humoral Immune Responses of Cattle Vaccinated with Leptospirotic Pentavalent outer Envelope and Whole Culture Vaccines. *Am J Vet Res.* 1978; 39(7):1109-1114.
18. Reed and Muench . A simple method of estimating Fifty Percent Endpoints. *Am J Hyg.* 1938; 27:493-497.
19. STATGRAPHICS Plus for WINDOWS [computer program]. Version 2.1. Statistical Graphics Corp, USA, 1994-1996.
20. Kemenes K. Cross-Immunity Studies on Virulent Strains of Leptospire Belonging to Different Serotypes. *Z. Immun Allerg. Forsch.* 1964; 127:209-229.
21. Plesko I, Lataste-Dowlle C. Immunité croisee en leptospirose experimentale. Effects protecteurs reciproques realises par des souches grippothyphosa et des souches d"ettes serogroupes. *Annales de L' Institut Pasteur.* 1970; Tome 119.
22. Cacciapuoti B, Ciceroni L, Pinto A, Apollini M, Rondinella V, Bonomi U, Benedetti E, Cinco M, Dessi S, Dettori G, Grillo R, Falomo R, Mansueto S, Miceli D, Marcuccio L, Marcuccio C, Pizzocaro P, Schivo ML, Varaldo E, Lupide R, Ioli A, Marzolini A, Rosmini F. Survey on the prevalence of leptospira infections in the Italian population. *European J of Epidem.* 1994; 10:173-180
23. Jesús EO, Sánchez A y Ruíz I. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Pan Am J Public Health.* 2000; 7(5):325-331.
24. Yoandra RJ, González M, Ferriol X, Medina R, Ochoa R, Baró M, Armesto M, Talavera A y Sierra G. Respuesta IgG inducida en población de riesgo vacunada con vax-SPIRAL (Vacuna Antileptospirosica Trivalente canicola, copenhageni, mozdok). *VacciMonitor* (en Prensa).
25. Islay R, Obregón AM, Rodríguez J, Fernández C, Victoria B. Comportamiento de la circulación de *Leptospira interrogans* en humanos en diferentes regiones de Cuba (1996-2000). Conferencia impartida en la Reunión Científica Internacional "Leptospirosis 2001", Ciudad de La Habana, Mayo 17-18, Cuba.
26. Clara Luz D, Herrera F, Puentes T, Delgado L, González M, Goicochea N. Situación de la leptospirosis animal en Cuba. Conferencia impartida en la Reunión Científica Internacional "Leptospirosis 2001", Ciudad de La Habana, Mayo 17-18, Cuba.

Study of the Passive Protection induced by the serum of vaccinated people with vax-SPIRAL (Trivalent antileptospirotic vaccine) in Hámsters challenged with virulents strains of *Leptospira canicola*, *copenhageni* y *mozdok*

Abstract

As part of the characterisation studies of the human immune response induced in vaccinated people with vax-SPIRAL (Trivalent Antileptospirotic Vaccine), 109 and 69 voluntary people from the Universidad Agropecuaria and Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Havana Province were vaccinated respectively. Two blood samples were taken, before vaccination (T0) and 21 days after the second dose (T1). The specific IgG response was measured by means a quantitative indirect ELISA and its protective effect was evaluated by a passive protection test in hamsters. Taking into consideration the ELISA results four pools of sera were prepared and inoculated into the hamsters. They were challenge 18-24 hours later with 1000 -10 000 DL₅₀ of virulent strains of serovars canicola, copenhageni and mozdok. The animals were observed during 14 days. The correlation coefficient of 0.94 and 0.97 indicating a relatively strong relationship between the IgG level and protection for canicola and mozdok respectively, for copenhageni a correlation coefficient equals to 0,83 was obtained indicating a moderately strong relationship. The specific IgG response of sera from risk people was related with protection.

Keywords: Leptospirosis, vaccination, passive protection, humoral response, *Leptospira canicola*, *Leptospira copenhageni*, *Leptospira mozdok*.