

vax-SPIRAL[®], vacuna trivalente (Canicola-Icterohaemorrhagiae-Pomona). Capacidad protectogénica cruzada frente al reto con L. Ballum de alta patogenicidad en el modelo Hámster Sirio Dorado

Mariela Naranjo, Niurka Batista, Yolanda Valdés, Marta González, Juan Infante y Gustavo Sierra.

Instituto Finlay. Centro de Investigación–Producción de Vacunas. Ave. 27 No. 19805 e/ 198 y 202. La Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba.

Correo electrónico: marielanmar@finlay.edu.cu

En Cuba, desde 1997 se viene aplicando en grupos de riesgo una vacuna contra la leptospirosis (vax-SPIRAL[®]) dirigida contra los serogrupos Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pomona. Sin embargo, en los últimos años la situación epidemiológica del país ha variado y en la actualidad el serogrupo Ballum alcanza la más alta incidencia, haciéndose necesario conocer el grado de protección de vax-SPIRAL[®] frente a este serogrupo. Para ello se evaluó la protección cruzada de vax-SPIRAL[®] frente al serogrupo L. Ballum en el modelo animal Hámster Sirio Dorado, con una y dos dosis de esta vacuna. Se emplearon, además, diferentes dosis de la vacuna y diferentes lotes vacunales. En todos los casos se determinó la prevalencia de leptospira en los principales órganos diana, luego del reto contra 100 y 10 000 DL₅₀ de las cepas de L. Ballum altamente virulentas (cepas 12399, 42600 y 60). Los resultados mostraron un 100% de protección de los animales inmunizados frente a la infección letal y el estado de portador con una y dos dosis de la vacuna. En ningún caso se apreciaron síntomas característicos de infección en los órganos diana.

Palabras clave: Leptospira Ballum, protección cruzada, vax-SPIRAL[®].

Introducción

La leptospirosis es la zoonosis bacteriana de más amplia distribución mundial, afecta prácticamente a todos los mamíferos y ha emergido como un importante problema de salud en grandes centros urbanos de países en desarrollo (1, 2), dejando de ser en la práctica sólo una enfermedad de grupos de riesgo laboral. Esta enfermedad es causada por una espiroqueta perteneciente a la especie fenotípica *Leptospira interrogans* (1-3).

A pesar del enorme interés de la comunidad científica en desarrollar nuevas estrategias de vacunas que garanticen un amplio espectro de protección frente a casi 230 serovariedades patógenas al hombre y los animales, las vacunas de células enteras inactivadas continúan siendo en la actualidad la medida inmunoproliférica disponible más eficaz, con una protección serotipo específica y de relativa corta duración (3).

En Cuba, desde 1997 se viene aplicando a grupos humanos de riesgo la vacuna trivalente vax-SPIRAL[®] (4), desarrollada para conferir protección contra los serogrupos Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pomona, que ha logrado controlar y disminuir en la población vacunada la morbilidad de esta enfermedad con una elevada efectividad. Sin embargo, en los últimos años la situación epidemiológica del país ha variado, y en la actualidad el serogrupo Ballum es el más frecuentemente aislado (5). Se hace necesario conocer profundamente el grado de protección de vax-SPIRAL[®] frente a este serogrupo, de ahí que el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la protección cruzada en hámsters

vacunados con vax-SPIRAL[®] frente al reto heterólogo con cepas pertenecientes al serogrupo Ballum.

En años anteriores se pudo comprobar la existencia de protección cruzada en humanos inmunizados con vax-SPIRAL[®] durante una prueba clínica de efectividad de una cohorte en la provincia de Holguín, donde predominaba el serovar Ballum y a pesar de eso la vacuna logró un 97,3% de efectividad (6). Sin embargo, se requieren conocimientos más detallados de ese nivel de protección y de los mecanismos inmunológicos que lo median.

Materiales y Métodos

Cepas bacterianas

En este estudio se utilizaron las cepas candidatas vacunales 12399 y 42600 de *Leptospira interrogans* serogrupo Ballum (7), que fueron originalmente aisladas por hemocultivo a pacientes con leptospirosis en la provincia de Holguín. Se utilizaron, además, las cepas vacunales 87, 169 y 108 de los serogrupos Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pomona, respectivamente, aisladas a partir del material remitido al Centro Nacional de Epizootiología y Diagnóstico Veterinario de Ciudad de La Habana. Todas las cepas fueron mantenidas rutinariamente mediante subcultivos semanales en medio EMJH (8) bajo condiciones estáticas y conservadas en medio semisólido de Fletcher (9). La virulencia se mantuvo a través de pases periódicos en hámsters, según métodos descritos anteriormente (10).

Para la inmunización se emplearon los lotes 4001, 6002, 6008 y 7001 de la vacuna comercial vax-SPIRAL® que habían sido liberados satisfactoriamente por la Dirección de Calidad del Instituto Finlay.

Composición por dosis	(0,5 mL)
Células enteras inactivadas de: <i>L. Canicola</i>	$5-8 \times 10^7$
<i>L. Icterohemorrhagiae</i>	$5-8 \times 10^7$
<i>L. Pomona</i>	$5-8 \times 10^7$
Gel de hidróxido de aluminio	1 mg
Tiomersal	0,05 mg

Evaluación de la inmunidad cruzada en hámsters vacunados con vax-SPIRAL®

Para la evaluación de la protección cruzada se utilizaron 110 hámsters de 45-50 g de peso corporal, procedentes del Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), inmunizados con el lote 7001 de vax-SPIRAL®. Un grupo de 40 animales recibieron una única dosis de 0,5 mL por vía intramuscular, mientras los 70 restantes recibieron dos dosis de 0,5 mL, según vía, dosis y esquema propuesto por Naranjo y colaboradores (11). Tras 14 días de completados ambos esquemas, los animales del primer grupo y 40 del segundo fueron retados intraperitonealmente con 100 y 10 000 DL₅₀ de cada una de las cepas candidatas vacunales de Ballum, utilizando 10 animales por variante de reto y 0,05 mL como volumen de inóculo. Los 30 animales restantes del segundo grupo fueron inmunizados como se hace para el control de potencia de la vacuna trivalente (12) y se retaron intraperitonealmente en grupos de 10, con 10 000 DL₅₀ de cada cepa vacunal (cepas 87, 169 y 108). Cuarenta animales no inmunizados se utilizaron como control interno para este ensayo. Los animales se mantuvieron con las condiciones adecuadas y bajo la observancia de las normas y regulaciones bioéticas vigentes nacional e internacionalmente (13).

Todos los animales inoculados fueron observados durante un periodo de 14 días, tras lo cual a los sobrevivientes de cada grupo se les aplicó la eutanasia y se les realizó examen anatomopatológico macroscópico y cultivo de hígado y riñón individualmente en medio EMJH, con el objetivo de determinar la prevalencia del microorganismo en los principales órganos diana de la infección leptospirósica (3). Los cultivos de órganos se observaron periódicamente bajo el microscopio de campo oscuro y se consideró como resultado negativo la ausencia de crecimiento tras 60 días de incubación a 30 °C en condiciones estáticas.

Paralelamente se vacunaron 120 hámsters de 45-50 g de peso corporal, procedentes del CENPALAB, con una única dosis de 0,5 mL del Lote 7001 de vax-SPIRAL®, diluido 1/2, 1/4 y 1/8 (40 animales por dilución), por vía intramuscular en la cara interna de una de las extremidades posteriores. Catorce días después de inmunizados, estos fueron retados con 100 y 10 000 DL₅₀ de cepas candidatas vacunales

vacunales de Ballum (12399 y 42600), donde se utilizaron 10 animales por variante de reto y 0,05 mL como volumen de inóculo. En todos los casos se evaluó la protección conferida contra la infección letal y la prevalencia de leptospiras en órganos, según la metodología descrita anteriormente.

En este estudio se evaluó, además, la protección cruzada en hámsters vacunados con diferentes lotes de vax-SPIRAL® (4001, 6002 y 6008), suministrados en diferentes momentos por la planta de producción del Instituto Finlay, frente a la cepa 60 de *L. Ballum*, aislada de casos clínicos procedentes de personas no vacunadas incluidas en el estudio de efectividad de la Vacuna Antileptospirósica Trivalente, desarrollado en la provincia Holguín entre 1996 y 1997. Se inmunizaron 120 hámsters de 45-50 g de peso corporal, procedentes del CENPALAB, con dos dosis de la vacuna de 0,5 mL, por vía intramuscular profunda, con intervalo entre dosis de seis semanas (40 animales por lote de vacuna). Como control del ensayo se utilizaron 40 animales no vacunados. Catorce días después de aplicada la segunda dosis los animales se retaron con 1000-10 000 DL₅₀ de la cepa virulenta 60 del serogrupo Ballum y de las cepas vacunales 87, 169 y 108 (10 animales por cepa). Los animales se observaron durante 14 días y se registraron sus muertes.

Determinación de la dosis letal media en hámsters

La dosis letal media de cada una de las cepas utilizadas en el reto se corroboró 15 días antes del ensayo y se repitió paralelamente el mismo con el objetivo de asegurar las dosis empleadas.

Se estimó cuantitativamente la virulencia de cada cepa candidata vacunal en el modelo Hámster Sirio Dorado mediante la determinación de la DL₅₀ según la metodología propuesta por Fajardo y colaboradores (12). En este estudio se utilizaron animales de 45-50 g de peso, procedentes de CENPALAB, mantenidos bajo las condiciones establecidas.

A partir de un cultivo en fase exponencial, crecido en medio proteico EMJH bajo condiciones controladas (130 rpm, 30 °C), se preparó una suspensión bacteriana con una concentración celular equivalente a 10-12 leptospiras por campo de observación bajo el microscopio de campo oscuro, para lo cual se diluyó el cultivo en medio EMJH fresco. La concentración celular de esta suspensión inicial se determinó por conteo directo de las células en cámara de Petroff-Hausser y conteo de unidades formadoras de colonia por siembra de medio EMJH sólido. A partir de esta suspensión se realizaron diluciones seriadas en el medio EMJH desde 10⁻¹ hasta 10⁻¹⁰. Grupos de cinco animales fueron inoculados con 0,5 mL de cada dilución por vía intraperitoneal. Los animales se observaron durante los 14 días posteriores a la inoculación y se registró su muerte. El cálculo de la DL₅₀ para cada cepa se realizó mediante el método de *Reed y Muench* (14).

Resultados

Los resultados de la evaluación cuantitativa de la virulencia de ambas cepas candidatas vacunales del serogrupo Ballum en el modelo Hámster Sirio Dorado, mediante la determinación de la dosis letal media, mostraron una $DL_{50}=9$ células para la cepa 12399 y una $DL_{50}= 8$ células para la cepa 42600. Resultados similares se obtuvieron tras tres determinaciones sucesivas. Al evaluar la protección cruzada conferida por una dosis de vax-SPIRAL® frente a Ballum se apreció un 100% de protección en los animales inmunizados frente a la infección letal y el estado de portador, independientemente de la cepa de L Ballum utilizada (12399 y 42600) y de las dosis de reto aplicada (100 y 10 000 DL_{50}). Todos los animales inmunizados con la vacuna trivalente y retados con L. Ballum sobrevivieron al reto heterólogo con 100 o 10 000 DL_{50} de ambas cepas de Ballum utilizadas en el estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados del reto en hámsters vacunados con una dosis de vax-SPIRAL®, Lote 7001, frente a 100 y 10.000 DL_{50} de cepas virulentas (12399 y 42600) pertenecientes a L. Ballum.

No. de DL_{50}	Cepa de reto	Vacunados	No vacunados
		n = 10 %S	n = 10 %S
100	12399	100	0
	42600	100	0
10 000	12399	100	0
	42600	100	0

% S por ciento de sobrevivencia

En ningún caso se apreciaron síntomas característicos de infección en órganos diana (hígado y riñón) como endurecimiento, hemorragias o ictericia, ni crecimiento de

leptospiras en los cultivos realizados de órganos. Igual resultado se obtuvo al evaluar la protección cruzada conferida por dos dosis de la vacuna frente al reto con Ballum y con las cepas vacunales de los serogrupos Canicola, Icterohaemorrhagiae y Pomona (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados del reto de hámsters vacunados con dos dosis de vax-SPIRAL®, Lote 7001, frente a 100 y 10.000 DL_{50} de cepas virulentas pertenecientes a L. Ballum (cepas 12399 y 42600) y frente a 10 000 DL_{50} de los serogrupos Canicola, Ictero y Pomona

No. de DL_{50}	Cepa de reto	Vacunados
		n = 10 %S
100	12399	100
	42600	100
10 000	12399	100
	42600	100
	Canicola	100
	Copenhageni	100
	Mozdok	100

% S por ciento de sobrevivencia

Al evaluar la protección cruzada conferida por diferentes diluciones de una dosis única de vax-SPIRAL® frente a Ballum se apreció que todos los animales sobrevivieron al reto heterólogo con 100 o 10,000 DL_{50} de ambas cepas de Ballum utilizadas (Tabla 3). El cultivo de los órganos diana (hígado y riñón) para ninguno de los animales sobrevivientes, en las diferentes diluciones, mostró síntomas característicos de infección, ni crecimiento de leptospiras.

Tabla 3. Resultados del reto en hámsters vacunados con diferentes diluciones de una única dosis de vax-SPIRAL®, Lote 7001, frente a 100 y 10 000 DL_{50} de cepas virulentas pertenecientes a L. Ballum (cepas 12399 y 42600).

Dilución de la vacuna	No. de DL_{50}	Cepa de reto	Sobrevivencia de los animales	
			n = 10 %S	%M
1/2	100	12399	100	0
		42600	100	0
	10 000	12399	100	0
		42600	100	0
1/4	100	12399	100	0
		42600	100	0
	10 000	12399	100	0
		42600	100	0
1/8	100	12399	100	0
		42600	100	0
	10 000	12399	100	0
		42600	100	0
No vacunados	100	12399	0	100
		42600	0	100
	10 000	12399	0	100
		42600	0	100

% S por ciento de sobrevivencia

Se apreció que todos los lotes de vax-SPIRAL[®] confirieron un alto grado de protección contra la infección letal frente a cualesquiera de las cepas (87, 169 y 108) pertenecientes a los

serogrupos homólogos y la cepa 60 del serogrupo heterólogo (Tabla 4), mientras que el 100% de los animales controles no sobrevivieron al reto contra 1,000-10,000 DL₅₀.

Tabla 4. Resultados del reto de hámsters vacunados con dos dosis de diferentes lotes de vax-SPIRAL[®], Lote 4001, 6002 y 6008, frente a 1000-10 000 DL₅₀ de la cepa virulenta (60) perteneciente a L. Ballum y las cepas vacunales.

Lote de la vacuna	No. de DL ₅₀	Serogrupo de reto	Sobrevivencia de los animales n = 10	
			%S	%M
4001	8290	Ballum	100	0
	4145	Canicola	100	0
	2073	Ictero	100	0
	1036	Pomona	100	0
6002	8290	Ballum	100	0
	4145	Canicola	100	0
	2073	Ictero	100	0
	1036	Pomona	100	0
6008	8290	Ballum	100	0
	4145	Canicola	100	0
	2073	Ictero	100	0
	1036	Pomona	100	0
No vacunados	8290	Ballum	0	100
	4145	Canicola	0	100
	2073	Ictero	0	100
	1036	Pomona	0	100

Discusión

Las vacunas antileptospirósicas de células enteras han sido por lo general muy eficaces en la protección contra la infección letal en los animales inmunizados, aunque esta protección es de limitada duración y restringida a la serovariedad componente y aquellas antigénicamente relacionadas (3). Sin embargo, al evaluar la eficacia de una vacuna antileptospirósica se debe distinguir entre la protección contra la infección letal (muerte) y la protección contra el establecimiento del estado de portador (infección de órganos y leptospiruria) (15). La ausencia de enfermedad en los animales inmunizados no excluye la posibilidad de que estos sean portadores asintomáticos y diseminadores del patógeno a través de la orina (1, 2). Aunque en el hombre el estado de portador solo dura un corto periodo de tiempo tras la infección natural y usualmente este no constituye una fuente importante de diseminación de la enfermedad, en animales como el ganado vacuno o porcino el estado de portador crónico asintomático puede extenderse durante años, constituyendo importantes fuentes de infección para otros animales y el hombre (1, 2). Por tal motivo el establecimiento de una eficaz protección no solo contra la infección letal sino, además, contra el estado de portador debe caracterizar a una buena vacuna profiláctica contra la leptospirosis.

El análisis macroscópico de órganos en los animales inmunizados sobrevivientes al desafío en nuestro estudio

reveló en todos los casos la ausencia de signos característicos de la infección. El cultivo de varias secciones de órganos en medio EMJH arrojó en todos los casos la ausencia de crecimiento microbiano tras 60 días de incubación. Esta total protección contra el estado de portador conferida por vax-SPIRAL[®] está en correspondencia con lo obtenido para otras vacunas antileptospirósicas adyuvadas (15) y en ello parece desempeñar un papel fundamental la respuesta inmune potencializada por el hidróxido de aluminio (16, 17).

Muy pocos han sido los estudios encaminados a demostrar la existencia de protección cruzada entre serogrupos diferentes de *Leptospira*. Hasta hace algunos años estaba bien establecido que la protección conferida tras una infección natural o inmunización era serogrupo/serovar específica (1); sin embargo los conceptos sobre la inmunidad contra la infección leptospirósica se han ido modificando a la luz de los conocimientos actuales. Trabajos muy recientes indican la inducción de una potente respuesta celular tras la inmunización con vacunas antileptospirósicas adyuvadas (18), aunque este patrón de respuesta no se produce como resultado de la infección natural o al menos en la misma magnitud (17). Por otro lado, Sonrier y colaboradores demostraron la inducción de una protección cruzada estadísticamente significativa por la fracción proteica de cepas del serovar autumnalis frente al reto con canicola en gerbils (19). La inmunización de gerbils con proteínas de

autumnalis recombinantes expresadas en adenovirus protegió a 13 de 15 animales frente a una protección en 8 de 16 animales placebos tras el reto con 10,000 leptospiras virulentas; sin embargo los autores no aclaran el número de DL₅₀ equivalentes al reto realizado, a lo cual se une la desventaja de un 50% de protección observada en los placebos (20).

Aunque la inmunidad conferida por las vacunas antileptosirósicas disponibles en la actualidad se considera serogrupo/serovar específica, estudios recientes demuestran la capacidad de proteínas altamente conservadas de establecer una cierta protección cruzada. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren una importante comunidad antigénica entre el serogrupo Ballum y al menos uno de los tres serogrupos componentes de la vacuna trivalente vax-SPIRAL[®], lo cual determina la inducción de una fuerte inmunidad cruzada con capacidad protectora frente a la infección experimental con Ballum en hámsters inmunizados con la vacuna trivalente. Estos resultados en el modelo animal están en correspondencia con el 97,3% de efectividad global alcanzada por vax-SPIRAL[®] al concluir el periodo de vigilancia epidemiológica en la provincia de Holguín y el 92,5% de efectividad para el serogrupo Ballum, no incluido en la vacuna (6). Además el ensayo de eficacia desarrollado en la provincia de Villa Clara reportó una eficacia global en el terreno de 78,1% para los serogrupos incluidos en la vacuna y un 60,4% para otros serogrupos no incluidos, luego de un año de vigilancia epidemiológica posvacunación en humanos (21). De esta forma los casos confirmados de infección por Ballum en personas vacunadas con vax-SPIRAL[®] pudieran asociarse entonces al establecimiento de una ineficiente inmunidad en estas personas, a la pérdida de la capacidad de protección cruzada durante el periodo posvacunación o en último caso a la no existencia de una fiel correlación entre la protección cruzada lograda en el modelo animal y la conferida a humanos vacunados.

Los resultados obtenidos demuestran que dada la gran comunidad antigénica que existe entre los cuatro serogrupos de *Leptospira* de mayor circulación en Cuba, la vacuna trivalente vax-SPIRAL[®] establece una fuerte inmunidad cruzada con completa protección frente a Ballum en hámsters, al menos después de 14 días de completado el esquema de inmunización con una o dos dosis de vacuna. Igualmente se observó consistencia de estos resultados al ser evaluados diferentes lotes de la vacuna frente al reto con otra cepa de este mismo serogrupo. Además, se confirman la utilidad de seguir utilizando vax-SPIRAL[®] en las condiciones de la epizootiología de Cuba, al menos mientras no se disponga de formulaciones más “a la medida”.

Los resultados del presente estudio confirman en el modelo animal lo que ya se esperaba, después de las experiencias clínicas en Holguín y otros lugares del país, sin embargo, aún es necesario perfeccionar la sensibilidad del modelo

Hámster Sirio Dorado para estudiar con mayor profundidad los límites de la protección conferida por vax-SPIRAL[®], con respecto a la magnitud de los inóculos infectantes y el papel que pudiera estar desempeñando la dosis inmunizante. Por otra parte se debe establecer el aporte de cada serovar incluido en la vacuna a la protección cruzada anti-Ballum.

Referencias

1. Vinetz JM. Leptospirosis. *Curr Open Inf Dis* 2001;14:527-38.
2. Levett P. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001;14(2):296-326.
3. Barthi AR, Jarlath EN, Ricaldi JN, Matthias MA, Díaz MM, Lovett MA, et al. Leptospirosis. A zoonotic disease a global importance. *Lancet Infect Dis* 2003;3(12):757-71.
4. González M, Martínez R, Cruz de la Paz R, Infante JF, González I, Baró M y colaboradores. vax-SPIRAL[®]. Vacuna antileptosirósica trivalente para uso humano, investigación, desarrollo e impacto sobre la enfermedad en Cuba. *Biocología Aplicada* 2004;2(2):107-111.
5. Rodríguez I, Rodríguez J, Fernández C, Obregón A, Victoria B. leptospirosis humana en Cuba. Un acercamiento al conocimiento de sus principales reservorios. *Boletín epidemiológico Semanal del IPK* 2002;12(1).
6. Martínez R, Pérez A, Baró M, Álvarez M, Menéndez J, Díaz M, et al. Evaluation of the effectiveness of a new vaccine against human leptospirosis in groups at risk. *Rev Panam Salud Pública* 2000;8(6):385-92.
7. González A, Rodríguez Y, Batista N, Valdés Y, González M. Caracterización microbiológica de cepas candidatas vacunales de *Leptospira interrogans* serogrupo Ballum. *Rev Cub Med Trop* 2003;55:146-152.
8. Ellinghausen H, McCullough W. Nutrition of *Leptospira Pomona* and growth of 13 other serotype: a serum-free medium employing oleic albumin complex. *Am J Vet Res* 1965;28:39-44.
9. Fletcher W. Recent work on leptospirosis, tsutsugamushi disease and tropical typhus in the Federated Malay States. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1928;21:265-282.
10. Koizumi N, Watanabe H. Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. *Vaccine* 2004;22:1545-1552.
11. Naranjo M, Rodríguez Y, Oliva R, Jáuregui U, González M. Esquema de inmunización en hámsters frente al preparado vacunal antileptosirósico cubano. *Acta Farm Bonaerense* 1999;18:121-126.
12. Fajardo EM, Ortiz B, Chávez A, Gainza N, Izquierdo L, Hernández Y, et al. Estandarización de la dosis letal 50 de las cepas de *Leptospira interrogans* utilizadas en el control de la vacuna cubana contra la leptospirosis humana. *Rev Cub Med Trop* 1998;50(1):22-26.
13. Cuba. Servicio Nacional de Sanidad Animal. Disposición 309/2000. Consideraciones éticas para el uso de animales de laboratorio: 215-232. (Documento regulatorio).

14. Reed J and Muench C. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hyg* 1938;27:493-7.
15. Bolin C, Alt D. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *Am J Vet Res* 2001;62:995-1000.
16. Brown R, Blumerman S, Gay C, Bolin C, DUBY R, Baldwin C. Comparison of three different leptospiral vaccines for induction of a type 1 immune response to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *Vaccine* 2003;21:4448-4458.
17. Naiman BM, Blumerman S, Alt D, Bolin C, Brown R, Zuerner R, et al. Evaluation of type 1 immune response in naïve and vaccinated animal following challenge with *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo: Involvement of WC1 gband CD4 T cells. *Infect Immun* 2002;70:6147-6157.
18. Naiman BM, Alt D, Bolin C, Zuerner R, Baldwin CL. Protective Killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent immunity comprising responses by CD4 and gammadelta T lymphocytes. *Infect Immun* 2001;69(12):7550-7558.
19. Sonrier C, Branger C, Michel V, Ruvoen-Clouet N, Ganiere J and Andre-Fontaine G. Evidence of cross-protección within *Leptospira interrogans* in an experimental model. *Vaccine* 2000;19:86-94.
20. Branger C, Sonrier C, Chatrenet B, Klonjkowski B, Ruvoen-Clouet N, Aubert A, et al. Identification of the hemolysis-associated protein 1 as a cross-protective immunogen of *Leptospira interrogans* by adenovirus-mediated vaccination. *Infect Immun* 2001;69(11):6831-6838.
21. Martínez R, Pérez a, Quiñones M, Cruz R, Álvarez A, Armesto M, et al. Eficacia y seguridad de una vacuna contra la leptospirosis humana en Cuba. *Rev Panam Salud Pública* 2004;15:249-255.

vax-SPIRAL[®], trivalent vaccine against canicola-icterohaemorrhagiae-pomona. Cross-protection capacity against challenge with highly pathogenic L. Ballum serogroup, in Syrian Golden Hamster Model

Abstract

The vaccine against Leptospirosis (vax-SPIRAL[®]) has been applied in risk groups against serogroups Canicola, Icterohaemorrhagiae and Pomona in Cuba since 1997. However, the epidemiological situation has changed and presently, the serogroup Ballum reaches the highest incidence. As a consequence, a study was conducted to know the grade of protection of vax-SPIRAL[®] against this serogroup. In this study the cross protection of vax-SPIRAL[®] against serogroup L. Ballum with one and two doses of the vaccine was evaluated in Syrian Golden Hamster model. In addition, different doses of the vaccine and different vaccinal lots were used. Prevalence of leptospira in target organ after the challenge with 100 and 10 000 DL₅₀ of highly virulent L. Ballum strains (strains 12399, 42600 y 60) was determined in all cases. The results showed a complete cross-protection of immunized animal against lethal infection and the carrier state with one and two doses of the vaccine. Characteristic symptoms of the infection were not observed in the target organs.

Keywords: *Leptospira* Ballum, cross-protection, vax-SPIRAL[®].

Recibido: Diciembre de 2007

Aceptado: Marzo de 2008