

vax-SPiRAL®. Vacuna antileptospirósica trivalente para uso humano; investigación, desarrollo e impacto sobre la enfermedad en Cuba

REPORTE

✉ Marta González¹, Raydel Martínez², Raúl Cruz de la Paz³, Juan F Infante Bourzac¹, Irma González Novo¹, Morelia Baró Suárez¹, Alberto Pérez Sierra¹, Gustavo Sierra González¹, Omar Figueredo Rodríguez¹, Raúl Boué Gutiérrez¹, Jorge Menéndez¹, Yoandra Rodríguez Jiménez¹, Reynaldo Oliva Hernández¹, Marlene Armesto¹, Angel Alvarez², Reynaldo Menéndez, Manuel Díaz, Carmen Fernández Molina Silveira, José Rodríguez, Luis Izquierdo¹, Rolando Ochoa¹, Ana M Obregón², Esther M Fajardo¹, Lilia Alfalla¹, Mariela Naranjo Medina¹, Niurka Batista Santiesteban¹, Caridad Torres Suárez¹, Sonia Padrón Padrón¹, Francisco Domínguez., Ramón Barberá¹, Concepción Campa Huergo¹

¹Centro de Investigación-Producción de Vacunas y Sueros, Instituto "Finlay"
Ave. 27 No. 19805, La Lisa, AP 16017, CP 11600, Ciudad de La Habana, Cuba
Fax: (53-7) 336075; E-mail: martaglez@finlay.edu.cu

²Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK)
Autopista Novia del Mediodía Km 6¹/₂, La Lisa, AP 601, Ciudad de La Habana, Cuba
Fax: 204 6051; E-mail: gkouri@ipk.sld.cu

³Ministerio de Salud Pública
Calle 23 No. 201 Esquina N, Vedado, CP 10400, Ciudad de La Habana, Cuba
Fax: (53-7) 55-2376

RESUMEN

La leptospirosis es una de las zoonosis de mayor distribución mundial con una mayor incidencia en regiones tropicales. Tiene como agente causal espiroquetas patógenas pertenecientes al género *Leptospira*. A partir de 1989 esta enfermedad comenzó a presentarse en nuestro país con una tendencia ascendente para adquirir magnitud de epidemia a finales del quinquenio 1990-1995. Para darle solución a este problema de salud se iniciaron las investigaciones para la producción de una vacuna a partir de cepas autóctonas. Dentro de los objetivos propuestos estuvieron: Formular variantes de vacuna de células inactivadas no adsorbida y adsorbida en hidróxido de aluminio; evaluar mediante ensayos en hámsters, la inmunogenicidad, potencia e inocuidad de las variantes de vacuna formuladas, lograr su escalado y consistencia productiva y demostrar en humanos su seguridad, inmunogenicidad y eficacia. Los resultados obtenidos de la fase preclínica permitieron seleccionar la variante de vacuna adsorbida, la cual demostró ser inocua, inmunogénica y protectogénica. Se logró el escalado productivo en fermentador, esterilización in situ del medio de cultivo libre de proteínas utilizado en el fermentador y la concentración del producto mediante microfiltración tangencial para el procesamiento aséptico. Los resultados de la evaluación clínica de la vacuna adsorbida vax-SPiRAL® demostraron su seguridad, baja reatogenicidad, inmunogenicidad y una eficacia serogrupo específica de un 78.1%. Se logró el registro de vax-SPiRAL® en 1998, y se incluyó dentro del Programa Nacional de Prevención y Control de la Leptospirosis, demostrándose su contribución en la reducción de la morbilidad en un 82.1%.

Palabras claves: vacuna, leptospirosis, ensayo preclínico, ensayo clínico, inmunogenicidad, potencia, seguridad

Introducción

La leptospirosis es una de las zoonosis de más amplia distribución mundial, se considera una enfermedad reemergente, con comportamiento endémico y brotes en varios continentes. Afecta a los animales domésticos y salvajes, que eliminan el microorganismo por la orina. Los seres humanos son huéspedes accidentales y pueden presentar desde una enfermedad leve y autolimitada hasta una enfermedad mortal con insuficiencia multiorgánica. La leptospirosis es importante por su distribución mundial, por el compromiso de la salud humana y animal y por sus repercusiones económicas. La frecuencia de la leptospirosis es alta en países cultivadores de arroz. La Organización Mundial de la Salud ha cifrado su prevalencia en humanos entre 4 y 100 casos por 100 000 habitantes en esos países y ha descrito un brote en China con una incidencia de 1 300 casos por 100 000 habitantes. En octubre de 1995 en

Achuapa, Nicaragua, se registraron 2 000 casos y 40 defunciones en humanos que presentaban una enfermedad febril hemorrágica posteriormente diagnosticada como leptospirosis. En Cuba, el primer caso de leptospirosis se comprobó en 1945. En 1983 se comenzó el Programa de Lucha y Control contra la leptospirosis, coordinado entre el IMV y el MINSAP. Además, se inició la profilaxis de los grupos de riesgo mediante la vacunación con una vacuna de procedencia soviética. A partir de 1989 esta enfermedad comenzó a presentarse con una tendencia ascendente para adquirir magnitud de epidemia a finales del quinquenio 1990-1995, con un máximo en el año 1994, donde se reportaron 2 828 casos con una tasa de 25.6 por 100 000 habitantes.

Las principales dificultades confrontadas en la prevención y control de la leptospirosis estuvieron asociadas con una alta incidencia de roedores, presencia de

perros y cerdos en las ciudades, deficiente tratamiento de los residuales pecuarios y limitada disponibilidad de los medios de protección. Esto, unido a la carencia de la vacuna soviética, determinó que la enfermedad constituyera a partir de ese momento un serio problema de salud para nuestra población. Los estudios inmunoepidemiológicos pusieron de manifiesto que los serogrupos de mayor circulación en ese entonces eran *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. canicola* y *L. hebdomadis* (diagnóstico serológico), desconociéndose los serovares circulantes de estos serogrupos. *L. pomona* predominaba en los brotes epidémicos.

Las vacunas que han sido producidas contra la leptospirosis humana en el mundo son suspensiones celulares mono o polivalentes, con concentraciones por dosis de vacuna entre 100 y 500x10⁶ células por serovar. Estas células son inactivadas por agentes químicos como el formaldehído y el fenol o por agentes físicos como el calor. Estas bacterinas se inoculan por vía subcutánea o intramuscular, con un esquema de 2 dosis de 0.5-2.5 mL con intervalo de 7-21 días entre ellas. En la actualidad solamente se encuentra en el mercado una vacuna francesa de Pasteur Merieux, cuyo nombre comercial es SPIROLET. Suspensión de células inactivadas (*L. icterohaemorrhagiae*), 2x10⁸ lept/mL. Inyección subcutánea (2 dosis, 15 días de intervalo, 3^{ra} dosis a los 4-6 meses de la primera dosis, con revacunación bianual).

Se conoce que la protección conferida en humanos no excede el año, existiendo casos en que en períodos epidémicos se hace necesaria la revacunación a los seis meses de concluido el esquema. Se sabe además que la inmunidad inducida es serovar-específica, aunque en menor extensión se puede encontrar protección entre serovares de un mismo serogrupo y también entre serogrupos diferentes.

Para darle respuesta a este problema de salud, el Instituto "Finlay" produjo la primera vacuna cubana contra la leptospirosis humana, una vacuna trivalente (*canicola*, *copenhageni*, *mozdok*) de células inactivadas y adsorbida en hidróxido de aluminio cuyo esquema de vacunación comprende la aplicación de dos dosis de 0.5 mL por vía intramuscular profunda en el deltoide con un intervalo de 6 semanas entre dosis. En 1998 se obtuvo el registro de esta vacuna, vax-SPIRAL®, y se incluyó dentro del Programa Nacional de Prevención y Control de la leptospirosis, habiéndose vacunado hasta el 2001 un total de 1 730 632 personas expuestas al riesgo de contraer la enfermedad.

Materiales y métodos

Fueron seleccionadas cepas de *Leptospira interrogans* pertenecientes a los serogrupos *canicola*, *icterohaemorrhagiae* y *pomona*, serogrupos de mayor incidencia en aquel entonces en el país [1], las mismas fueron clasificadas hasta serovar mediante la técnica de microaglutinación (MAT) [2], empleando para ello anticuerpos policlonales y monoclonales de referencia así como la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa [3]. Se caracterizó su patogenia en el modelo animal Hámster Sirio Dorado [4] y se estandarizaron las condiciones de crecimiento en medio libre [5] y medio proteico EMJH [6] así como la conservación en medio semisólido Fletcher [7].

Se formularon variantes de vacuna no adsorbida y adsorbida en gel de hidróxido de aluminio y se definie-

ron los controles de proceso y finales de la variante seleccionada. Se evaluó su inmunogenicidad y potencia en hámsters y su inocuidad en el Curiel Duncan Hartley y Ratón Balb/c. La protección homóloga inducida se evaluó mediante el reto frente a 10 000 DL₅₀ de cepas virulentas de los serovares *L. canicola*, *L. copenhageni* y *L. mozdok*.

Se estandarizó el escalado productivo de los cultivos de las cepas vacunales de *L. canicola*, *L. copenhageni* y *L. mozdok*, para la obtención del principio activo de la vacuna en fermentador aireado.

Se desarrolló la evaluación clínica de la seguridad, reactogenicidad, inmunogenicidad y eficacia de la vacuna formulada.

Principales resultados de la etapa de investigación

- Se definieron las condiciones óptimas de adsorción (temperatura, agitación, cantidad de células por mg de gel de hidróxido de aluminio) para las variantes de vacuna adsorbidas, las variantes de vacuna no adsorbidas representaron los controles del ensayo. Se establecieron los controles de proceso y finales de las preparaciones de vacuna formuladas.

- Se caracterizó la patogenia de las cepas vacunales de *Leptospira* en el modelo animal Hámster Sirio Dorado [4].

- Se optimizaron tres medios de cultivo libres de proteínas para la obtención de antígenos vacunales.

- Se demostró la inocuidad, inmunogenicidad (IgG específica a cada uno de los serovares implicados en la formulación vacunal) y potencia, de las variantes formuladas, y se definió la variante adsorbida como la mejor variante sobre la base del nivel de protección inducida en hámster después de la aplicación de una dosis y protección de un 100% frente al reto con 10 000 DL₅₀ de cepas altamente virulentas de los serovares implicados en la vacuna.

- Se definió el esquema de vacunación de dos dosis de 0.5 mL con un intervalo de 6 semanas entre dosis, inoculado por vía intramuscular profunda [8].

Diseño del producto incluida marca. 1994

Vacuna antileptospirósica trivalente, vax-SPIRAL®

Solicitud de ensayo clínico: 1994

- Se entregó el documento de la Información Químico-Farmacéutica del producto, resultados pre-clínicos y protocolos de ensayos clínicos Fase I (Seguridad) y Fase II (Inmunogenicidad y estudio de dosis y esquema).

Escalado productivo

- Se logró el escalado productivo en fermentador.
- Se implementó la esterilización in situ del medio de cultivo libre de proteínas utilizado en el fermentador.
- Se implementó la concentración del producto mediante microfiltración tangencial para el procesamiento aséptico.

Principales resultados de la etapa de ensayos clínicos

Ensayo clínico Fase I. Evaluación de la seguridad del producto

- No se reportaron eventos adversos graves durante los estudios realizados.

1. Martínez RS, Cruz de la Paz R, López CA. Algunas consideraciones sobre el comportamiento de la leptospirosis humana en Cuba. Rev. Cub. Med. Trop. 1993;45, 1:32-41.

2. Cole JR, Sulzer CR, Pursell AR. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. Appl Microbiol. 1973;5:65-9.

3. Yasuda PH, Steigerwalt AG, Sulzer KR, Kaufmann AF, Rogers F, Brenner DJ. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. Int J Syst Bacteriol. 1987;37:407-15.

4. Oliva R, Infante JF, González M, Pérez Y, Sifontes S, Marrero O, Valdés Y, Fariñas M, Estévez L, González I. Pathological-clinical characterization of leptospirosis in a golden Syrian hamster model. Arch Med Res. 1994;25,2:165-70.

5. Estévez LM, González M, Naranjo M, Rodríguez Y, Batista N, Yi R, Oliva R, González I, Herrera B. Evaluación del crecimiento de *Leptospira interrogans* en un medio libre. Congreso de proteínas. Evaluación de la capacidad protectora de una preparación vacunal. 1er Congreso Argentino, 1er Congreso Latinoamericano de Zoonosis, Buenos Aires; 1995.

6. Ellinghausen HC, McCullough WG. Nutrition of *Leptospira pomona* and growth of 13 other serotypes: Fractionation of oleic albumin complex and a medium of bovine albumin and polysorbate 80. Am. J. Vet. Res. 1965;26:45-51.

7. Faine S. Guidelines for the control of Leptospirosis. WHO, Geneva; 1982.

8. Naranjo M, Rodríguez Y, Oliva R, Jauregui U, González M. Esquemas de inmunización en hámsters frente al preparado vacunal antileptospirósico cubano. Acta Farm. Bonaerense. 1999;18:121-6.

- La duración de las reacciones adversas no excedió las 72 hrs.
- Los síntomas y signos fueron ligeros y no se incrementaron con una segunda dosis.
- La reacción local más frecuente fue el dolor, apareció durante las primeras 12 horas, con un alivio espontáneo.
- Las más frecuentes reacciones generales fueron febrícula, malestar general y cefalea en un bajo porcentaje de vacunados.
- Ninguno de los voluntarios requirió interrumpir las actividades diarias o su trabajo.

Estudio clínico Fase II. Inmunogenicidad

Se demostró la inmunogenicidad de la vacuna y la respuesta a cada uno de los serovares implicados en la formulación.

En las Tablas 1 y 2 se muestran los resultados de la respuesta IgG en diferentes poblaciones de vacunados.

Estudio clínico Fase III. Eficacia

- Se vacunaron 101 708 voluntarios de 20-64 años.
- Fueron observados durante 12 meses.
- Control de casos:
 - 12 casos en vacunados (2.38 x 100 000)
 - 56 casos en no vacunados (6.69 x 100 000)
- Se obtuvo una eficacia serogrupo específica de un 78.1%
- Se obtuvo una eficacia en otros serogrupos no incluidos en la vacuna de un 60.4%

Estudio clínico Fase IV. Efectividad (1996-1997)

Estudio caso control, personal de riesgo. Vacunados: 101 137, no vacunados: 16 881.
Efectividad de un 97%.

Registro médico sanitario

vax-SPIRAL® vacuna antileptospirósica trivalente.
REPÚBLICA DE CUBA. MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA ERM: 846/98.
Fecha de inscripción en el Registro: 11-12-1998.
No. de Registro: 1050.

Impacto sobre la enfermedad en Cuba

Total de personal expuesto vacunado (1996-2001) = 1 730 632.
Contribución a la reducción de la morbilidad en el período = 81.2%.
Contribución a la reducción de fallecidos = 31.7%.
Disminución de la tasa de incidencia de 25.6 x 100 000 en 1994 a 4.7 x 100 000 en el 2001.

Discusión

Desde su primer brote epidémico en 1910 entre los trabajadores que construían el alcantarillado de La Habana, hasta la década del 70 en que ocurrieron varios brotes de la enfermedad, la leptospirosis no representó un problema serio de salud en nuestro país. A partir de 1978 se crean las condiciones en el Instituto Nacional de Higiene y Epidemiología para el diagnóstico de la enfermedad en las diferentes provincias. Comienza a partir de esta fecha la preocupación por parte de las autoridades sanitarias de Cuba de diagnosticar y controlar la enfermedad en el hombre y los animales [9].

Dentro de las medidas de control de la leptospirosis están fundamentalmente el uso de medios de

Tabla 1. Evaluación por ELISA de la respuesta de anticuerpos IgG contra los serovares componentes de vax-SPIRAL® en dos poblaciones del municipio San José de Las Lajas, provincia Habana. Intervalo entre dosis de 6 semanas

Población	T1/T0*	Seroconversión					
		canicola		copenhageni		mozdok	
No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
UAH**	≥2	77	70.04	70	64.22	72	66.06
n=109	<2	32	29.36	39	35.78	37	33.94
CENSA***	≥2	46	66.67	46	66.67	44	63.77
n=69	<2	23	33.33	23	33.33	25	36.23

*Concentración de IgG 21 días después de la segunda dosis / concentración de IgG antes de la vacunación, ** Universidad Agraria de La Habana y *** Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria

protección (botas, guantes, etc), por ser esta una enfermedad ocupacional, y el saneamiento ambiental (desratización, tratamiento de residuales, etc). Dentro de las medidas profilácticas se encuentran la vacunación y el tratamiento con Doxiciclina al personal expuesto temporalmente [10].

En 1983 se introdujo por primera vez en Cuba el control profiláctico de la enfermedad mediante la vacunación del personal de riesgo con una vacuna proveniente de la antigua Unión Soviética, compuesta por 4 serovares (*icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *grippotiphosa* y *hebdomadis*), la cual fue aplicada hasta finales de la década del 80.

Debido a la caída del campo socialista se dejó de recibir la vacuna de la URSS. Ello provocó, unido al advenimiento del Período Especial y el consiguiente deterioro de las condiciones higiénico- sanitarias del país, que la leptospirosis comenzara a tener una tendencia ascendente incrementando casi todas las provincias las tasas de incidencia [9]. A partir de este momento pasa a ser un serio problema de salud para nuestra población en general, dejando de ser solamente una enfermedad de grupos de riesgo.

Se inician entonces las investigaciones en el Instituto "Finlay" encaminadas a producir "en el menor tiempo posible" una vacuna contra la leptospirosis humana a partir de cepas autóctonas

Al no existir un cepario con cepas aisladas de casos clínicos en humanos, que pudiera suministrar las cepas para la producción de las variantes de vacuna a evaluar, se decide utilizar cepas conservadas de aislamientos en animales, provenientes del CENEDI (IMV).

El estado del arte sobre vacunas para uso humano contra la leptospirosis evidenció en aquel entonces que no era un tema en el que se trabajara con inten-

9. Cruz de la Paz R, Salabarría LG, Blanco MO, Machado FO, Obregón AM, Alvarez SR, Martínez SR, González M, Puentes PT, Lojo RS, Sabina GD, González R, Suárez HM, Montoya BB, Zaldivar JZ, Terry GS, Arrazola del VE. Programa Nacional de Prevención y Control de la Leptospirosis Humana. MINSAP, Seruimpres. 1998:1-46 s.

10. Cruz de la Paz R. Estrategia cubana para la prevención y control de la leptospirosis humana. Conferencia brindada en el Congreso Panamericano de Veterinaria. Palacio de las Convenciones, Ciudad de La Habana, 2002.

Tabla 2. Evaluación por ELISA de la respuesta de anticuerpos IgG contra los serovares componentes de vax-SPIRAL® inducida en voluntarios vacunados durante el ensayo de eficacia en diferentes municipios de la provincia Villa Clara. Intervalo entre dosis de 6-8 semanas

Vacuna	Cepa y momento	N	Seroconversión			
			n	%	-0.95	0.95
HB	CANT1	422	7	1.7	0.8%	3.4%
vax-SPIRAL®	CANT1	460	176	38.3	33.9%	42.8%
HB	COPT1	422	12	2.8	1.6%	4.9%
vax-SPIRAL®	COPT1	460	146	31.7	27.7%	36.1%
HB	MOZT1	422	14	3.3	2.0%	5.5%
vax-SPIRAL®	MOZT1	460	143	31.1	27.0%	35.5%

N=Voluntarios de 20-62 años, vacunados con un intervalo de 6-8 semanas entre dosis.

**T1 = 21 días después de aplicada la segunda dosis

sidad en el mundo, por lo que solo se logró información importante de los resultados obtenidos por investigadores de China [11] e Israel [12, 13]. La información recogida nos permitió diseñar sobre esas bases la estrategia a seguir para la formulación de la vacuna cubana contra la leptospirosis humana.

Se elaboró una hipótesis en la que se concibió una vacuna de células inactivadas con una concentración antigénica por dosis de vacuna inferior a las reportadas para otras vacunas y adsorbida en gel de hidróxido de aluminio, garantizando con ello la potencialización de la respuesta y la disminución de su reactogenicidad [14, 15].

Las cepas vacunales debían responder a los serogrupos de mayor circulación en el país además de ser altamente virulentas, condición necesaria para considerarlas como candidatos vacunales. La caracterización de su patogenia en el modelo animal Hámster Sirio Dorado [4] nos permitiría contar con cepas capaces de expresar los factores de virulencia responsables del cuadro clínico de la enfermedad, factores contra los cuales debe estar dirigida la protección.

Es conocido que los subcultivos de *Leptospira* condicionan la pérdida de su actividad biológica, sobre lo que tiene gran influencia también la composición del medio y condiciones de cultivo y mantenimiento. Para garantizar la estabilidad biológica de las cepas vacunales se caracterizaron las condiciones de mantenimiento y conservación de las mismas, evaluándose los principales factores de crecimiento del microorganismo. Se logró estandarizar el crecimiento en el medio semisintético TA y se lograron formulaciones diferenciales de MLP para la producción de los antígenos vacunales. Este resultado garantizó la obtención de biomasa libre de proteínas, ya que en el proceso de producción de los antígenos vacunales, los lavados realizados fueron capaces de eliminar las trazas de albúmina que pudieran constituir un elemento reactogénico [16].

Dándole respuesta a la hipótesis de trabajo se formularon variantes de vacuna adsorbida y no adsorbida. Se demostró con los resultados obtenidos que la variante adsorbida inducía un nivel de anticuerpos IgG significativamente superior que la no adsorbida, así como una respuesta inmunológica mayor [14, 17]. Resultados recientes han demostrado que formulaciones de vacunas de células inactivadas y adsorbidas en hidróxido de aluminio para animales son capaces de inducir una respuesta celular [18]. Los ensayos de inocuidad desarrollados en Ratón Balb/c y Curiel Duncan Hartley demostraron la inocuidad de la formulación adsorbida.

En resumen los ensayos preclínicos demostraron la inocuidad, inmunogenicidad y capacidad protectora de la variante de vacuna adsorbida.

Definido el flujo tecnológico de producción de la vacuna propuesta hasta zaranda, se traspasó para la planta de producción del Instituto. Aquí se desarrolló el escalado de producción en fermentador aireado de 35 L. Se logró entonces una producción consistente, garantizándose de esta forma la producción de los diferentes lotes de vacuna para evaluar en ensayos clínicos.

Se montó, estandarizó y validó un sistema ELISA para la evaluación de la respuesta humoral. Teniendo en cuenta que el principio activo de la vacuna son células enteras, se utilizó como antígeno de recubri-

miento este mismo principio activo. Se conoce que el antígeno mayoritario contra el cual se inducen anticuerpos protectores es el LPS [19]. Cabría pensar entonces que este debía ser el antígeno de recubrimiento para medir ciertamente la respuesta inmune protectora inducida, pero según reporta la literatura en la actualidad se han identificado otros componentes estructurales de naturaleza proteica que están implicados en la protección y más que eso en la inducción de una inmunidad cruzada [20-23]. Todos estos elementos avalan que el mejor antígeno es el principio activo de la vacuna, midiéndose de esta forma la respuesta de forma integral.

A partir de diciembre de 1994 se inician los ensayos clínicos, luego de haberse obtenido la autorización para su ejecución por parte del CECMED, posterior a la presentación del documento que contenía los resultados de los ensayos preclínicos y los protocolos de ensayos clínicos I y II.

Los ensayos clínicos para evaluar reactogenicidad e inmunogenicidad se desarrollaron entre 1994-1995. Se demostró según los resultados obtenidos que, al igual que en el modelo animal Hámster Sirio Dorado, la variante adsorbida, cuyo nombre comercial fue vax-SPIRAL®, era poco reactogénica e inmunogénica [24].

La alta incidencia de la enfermedad en la provincia de Holguín trajo como consecuencia que se decidiera por las autoridades competentes del MINSAP vacunar a la población de riesgo identificada (118 018 personas). Se desarrolló en esta provincia el ensayo de efectividad, siendo esto un reto para la vacuna evaluada ya que según resultados de estudios inmunoepidemiológicos el serogrupo de mayor incidencia era *L. Ballum*, no incluido en la formulación vacunal. Los resultados obtenidos reportaron un 97.3% de efectividad, lo cual corroboró los resultados preclínicos. Se demostró una vez más, pero en este caso en humanos la potencia de la vacuna evaluada [25, 26].

El ensayo de eficacia desarrollado en la provincia de Villa Clara (1997-1998) reportó un 78.1% de eficacia a serogrupos incluidos en la vacuna y un 60.4% de eficacia a otros serogrupos no incluidos [26]. Resultados preclínicos han demostrado la inducción de protección cruzada en hámsters vacunados con vax-SPIRAL® y retados con cepas virulentas del serogrupo *L. ballum* [27].

Ensayos clínicos Fase IV post-licenciamiento desarrollados en personal expuesto al riesgo de la UAH y del CENSA nos permitieron caracterizar en cierta medida la respuesta IgG inducida, la cual difirió en aquellos individuos dependiente del nivel de anticuerpos circulantes por el nivel de exposición. Se evidenció en este ensayo un nivel de seroconversión de un 70.04, 64.22 y 66.06% a los serovares *canicola*, *copenhageni* y *mozdok* respectivamente [28]. Si comparamos estos resultados con el nivel de eficacia demostrado en la provincia de Villa Clara de un 78.1% podremos ver que estos concuerdan.

La eficacia demostrada de vax-SPIRAL® permitió su inclusión dentro del programa de control de la leptospirosis humana, mediante la vacunación de los diferentes grupos de riesgo del país. Los resultados obtenidos han demostrado el impacto en la morbilidad de la leptospirosis de la vacunación como medida profiláctica y de

11. Chen Ting-zuo. Development and present status of leptospiral vaccine and technology of production of the vaccine in China Ann Immunol. 1986;26:125-51.

12. Shenberg E, Torten MA. A New Leptospiral Vaccine for use in man. I Development of a vaccine from *Leptospira* grown on a chemically defined medium J Infect Dis. 1973;128:642-6.

13. Torten M, Shenberg E. A new leptospiral vaccine for use in man II. Clinical and serological evaluation of a field trial with volunteers. J Infect Dis. 1993;128:647-51.

14. Mannhalter JW, Neychev HO, Zlabinger GJ, Ahmad R, Eibl MM. Modulation of the human immune response by the non-toxic and non-pyrogenic adjuvant aluminium hydroxide: effect on antigen uptake and antigen presentation. Clin Exp Immunol. 1985;61, 1:143-51.

15. Shi Y, HogenEsch H, Regnier FE, Hem SL. Detoxification of endotoxin by aluminium hydroxide adjuvant. Vaccine. 2002;19:13-14,1747-52.

16. Valdés T, González M, Adonis R, Muñoz E, Lastré M, Sierra G. Quantification of albumin bovine fraction V in cellular antigens of antileptospiral Cuban vaccine vax-SPIRAL. Arch Med Res. 1997;28:3.

17. González M, Naranjo M, Rodríguez Y, Bebelagua Y, Oliva R, Batista N, González I, Izquierdo L, Sierra G. Vacuna antileptospirósica trivalente adsorbida para uso humano. Primer ensayo evaluativo de reactogenicidad e inmunogenicidad en un grupo de voluntarios sanos. VacciMonitor Año 6. 1997;12:2-10.

18. Naiman BM, Alt D, Bolin C, Zuerner R, Baldwin CL. Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent immunity comprising responses by CD4 and gamma delta T lymphocytes. Infect Immun 69. 2000;12:7550-8.

19. Bulach DM, Kalambaheti T, de la Pena-Moctezuma A, Adler B. Lipopolysaccharide biosynthesis in *Leptospira* J Mol Microbiol Biotechnol 2. 2000; 4:375-80.

20. Sonrier C, Branger C, Michel V, Ruvoen-Clouet N, Ganiere J And Andre-Fontaine G. Evidence of cross-protection within *Leptospira* interrogans in an experimental model Vaccine 2000;19:86-94.

21. Haake DA, Martinich C, Summers TA, Shang ES, Pruetz JD, McCoy AM, Mazel MK, Bolin CA. Characterization of leptospiral outer membrane lipoprotein LipL36: Downregulation associated with late-log-phase growth and mammalian infection Infect Immun 1998;66:4.

22. Haake DA. The rare outer membrane protein, OmpL1, of pathogenic *Leptospira* species is a heat-modifiable porin. Infect Immun 1995;63,8:3174-81.

23. Haake DA, Chao RL, Zuerner S, Barnett K, Barnett D, Mazel M, Matsunaga J, Levett PN and Bolin CA. The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection Infect Immun 2000;68: 2276-85.

24. Martínez RS, Obregón AMF, Pérez SA, Bali AG, Díaz MG, Baró MS y col. Reactogenicidad e inmunogenicidad de la primera vacuna cubana contra la leptospirosis humana. Rev Cub Med Trop. 1998;50,2:159-66.

los controles higiénico sanitarios. En estos momentos observamos la tendencia descendente de la enfermedad en el país y en la medida que se establezca un nivel de inmunidad en la población de riesgo, continuará la disminución de las tasas de incidencia de la población.

Con estas evaluaciones se puede asegurar que al haber investigado, desarrollado y logrado la producción estable de esta vacuna se dispone de una importante arma contra esta terrible enfermedad y Cuba se convierte en uno de los pocos países en disponer de este tipo de vacuna. Se abre además la perspectiva comercial al ser vax-SPIRAL® un producto de interés para ser usado en condiciones epidemiológicas de evidencia de la enfermedad, fundamentalmente en diversas regiones incluyendo Latinoamérica.

Conclusiones

1. Se caracterizaron las cepas autóctonas seleccionadas como cepas vacunales, pertenecientes a los serovares *L. canicola*, *L. copenhageni* y *L. mozdok*. Se caracterizó su patogenia en el modelo animal Hámster Sirio.

2. Se definieron las condiciones óptimas de crecimiento de las cepas vacunales en medio proteico y se optimizaron tres medios libre de proteínas para la producción de antígenos vacunales.

3. Se formuló una variante de vacuna trivalente de células inactivadas y se describieron las condiciones óptimas de adsorción al hidróxido de aluminio.

4. Se definieron los controles de proceso y finales de la variante adsorbida seleccionada.

5. Se definió el esquema de vacunación de dos dosis de 0.5 mL con un intervalo de 6 semanas entre dosis por vía intramuscular profunda.

6. Se demostró la inmunogenicidad, inocuidad y potencia de la formulación vacunal adsorbida en ensayos preclínicos.

7. Se realizó el traspaso de la tecnología de producción de la variante adsorbida a la planta de producción del Instituto "Finlay", lográndose el escalado a escala de producción.

8. En los ensayos clínicos realizados, tantos los pre y post-licenciamiento de la vacuna, se demostró que era segura y poco reactogénica, inmunogénica contra todos los serovares implicados en su valencia y frente a otros serovares de forma cruzada, eficaz (78-98%) según serovares circulantes.

9. Como parte del programa correspondiente del MINSAP se logró impactar sobre la reducción de la morbilidad en un 81.2% y en la letalidad en un 31.7%.

10. El contar en nuestro país con una vacuna contra la leptospirosis humana tiene un impacto económico importante, debido al ahorro en divisas al no tener que importar la vacuna para los grupos de riesgo, los beneficios de reducir significativamente el impacto económico negativo de la enfermedad y sus costos sociales, así como representar un producto potencialmente exportable.

La vacuna será útil para contribuir al control de la enfermedad en Cuba y otros países afectados.

25. Martínez RS. Evaluación parcial de la efectividad de la vacuna contra la Leptospirosis humana (vax-SPIRAL) en grupos de riesgo de la provincia de Holguín-Cuba. *Braz J Infect Dis* 1997;1:1.

26. Ministerio de Salud Pública de Cuba. vax-SPIRAL. Vacuna antileptospirosis trivalente (*canicola*, *copenhageni*, *mozdok*) para uso en humanos. Registro Médico Sanitario (1050) 846. 1998.

27. González M, Batista N, Machado M, Savournin O, Salterén A, Sanamé A, Ochoa I, Rodríguez Y, Naranjo M, Valdés Y, González I, Sierra G. Caracterización de cepas de *Leptospira Ballum* aisladas de casos clínicos en la provincia de Holguín, Cuba (1996-1997). Inmunidad cruzada en hámsters vacunados con vax-SPIRAL®. *Biotecnología Aplicada*, en prensa, volumen 21,1;2004.

28. Rodríguez RJ, González M, Ferriol X, Medina R, Ochoa R, Baró M, Armesto M, Talavera A, Sierra G. Respuesta IgG inducida en población de riesgo vacunada con vax-SPIRAL-SPIRAL® (vacuna antileptospirosis trivalente *canicola*, *copenhageni*, *mozdok*). *VacciMonitor*. 2001;10,3:7-12.