

INSTITUTO FINLAY

Solubilización de componentes de membrana externa de *Leptospira interrogans* serovar *mozdok* mediante desoxicolato de sodio y tritón X-100 y evaluación de su capacidad inmunogénica y protección homóloga y heteróloga inducida en hámsters

Lic. Yovania Fernández Rivera,¹ Lic. Yadira Pino Navarro,² Lic. Yisabel Aranguren Mazorra,³ Lic. Andrés González Rodríguez,⁴ Téc. María de los Ángeles Padrón⁵ y Téc. Yolanda Valdés⁶

RESUMEN

Se evaluaron 2 detergentes (tritón X-100 y desoxicolato de sodio) como agentes solubilizantes de los componentes de membrana externa de *Leptospira pomona* serovar *mozdok*. Se obtuvo un mayor rendimiento de proteínas mediante el tratamiento con el tritón X-100. Las variantes formuladas a partir de los extractos obtenidos demostraron una alta inmunogenicidad y capacidad de protección homóloga frente al reto en hámster.

Palabras clave: *Leptospira*, proteínas de membrana externa, Tritón X-100, inmunogenicidad, protección.

La leptospirosis es una zoonosis bacteriana de amplia distribución mundial cuyo agente causal son espiroquetas patógenas pertenecientes del género *Leptospira*.¹ Las vacunas existentes hasta el momento, para uso humano, son suspensiones de células completas inactivadas monovalentes o polivalentes, que inducen una protección serovar específica.² La necesidad de lograr una protección contra un mayor número de serovares ha condicionado la búsqueda de antígenos conservados capaces de inducir protección cruzada.³

Con esta finalidad se evaluaron 2 detergentes como agentes solubilizantes de los componentes

de membrana externa de *Leptospira pomona* serovar *mozdok*, el Tritón X-100 y el desoxicolato de sodio. Cada una de las muestras obtenidas fueron caracterizadas mediante SDS-PAGE. Mediante Dot Blot y Western Blot se evaluó el reconocimiento por el suero de individuos vacunados con vax-SPIRAL. La capacidad inmunogénica y protección homóloga y heteróloga inducida de los componentes de membrana externa solubilizados, se evaluó en hámsters.

Se obtuvo un mayor rendimiento de proteínas mediante el tratamiento con el Tritón X-100. Sin embargo, se observaron perfiles electroforéticos muy similares, observándose bandas comunes en

¹ Licenciada en Biología.

² Máster en Ciencias. Licenciada en Farmacia.

³ Licenciada en Farmacia.

⁴ Máster en Ciencias. Licenciado en Microbiología.

⁵ Técnico en Química.

⁶ Técnico en Veterinaria.

la región de los 12, 20, 22, 28, 36, 41, 45, 51, 56, 63, 69, 83, 93, 114 y 122 kDa. Se observó el reconocimiento de antígenos por el suero de individuos vacunados con vax-SPIRAL®, demostrándose que anticuerpos generados contra células enteras son capaces de reconocer también a las proteínas de membrana externa junto con el lipopolisacárido de forma soluble e independiente del resto de los componentes de la membrana externa de la célula.

Las variantes formuladas a partir de los extractos obtenidos con ambos detergentes demostraron una alta inmunogenicidad y capacidad de protección homóloga frente al reto con 100 y 10 000 DL₅₀ de la cepa virulenta del serovar *mozdok* y una menor, pero significativa protección cruzada frente a *canicola*.

AGRADECIMIENTOS

A la licenciada Marta González González, al licenciado Rubén Cabrera y a la doctora Ileana Martínez Cabrera por su participación en este trabajo.

Solubilization of components of outer membrane of *Leptospira interrogans* serovar *mozdok* by sodium desoxycholate and triton X-100 and evaluation of their

immunogenic capacity and homologous and heterologous protection induced in hamsters

SUMMARY

Two detergents (triton X-100 and sodium desoxycholate) were evaluated as solubilizing agents of the components of the outer membrane of *Leptospira Pomona* serovar *mozdok*. It was obtained a greater yielding of proteins on applying the treatment with triton X-100. The variants formulated starting from the extracts obtained showed a high immunogenicity and capacity of homologous protection against the challenge in hamster.

Key words: *Leptospira*, outer membrane proteins, Triton X-100, immunogenicity, protection.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Farr RW. Leptospirosis. Clin Infect Dis 1995;21:1-6.
2. World Health Organization. Report of the WHO working group on leptospiral vaccine development and vaccinology. Nagoya, 1993.
3. Haake DA, Mazel MK, McCoy AM, Milward F, Chao G, Matzunaga J, et al. Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and LipL41 exhibit synergistic immunoprotection. Infect Immun 1999;67:6572-82.

Recibido: 27 de diciembre de 2004. Aprobado: 10 de marzo de 2005.

Lic. Yovania Fernández Rivera. Laboratorio de Bioquímica. Vicepresidencia de Investigaciones. Instituto Finlay. Correo electrónico: yofernandez@finlay.edu.cu