

SECCIÓN ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Evaluación de la respuesta serológica contra *Leptospira* spp. a partir del uso de vacunas comerciales bi- y polivalentes en vaquillonas.

Lux, J.; Giménez, H.; Torrado, J.; Gorozurreta, C.; Poey, M.S.; Volpi Lagreca, G.; Platino, A.; Pallero, R.; Soto, L.; Romero Harry, H.; Mora, S. y Fort, M.

Evaluación de la respuesta serológica contra *Leptospira* spp. a partir del uso de vacunas comerciales bi- y polivalentes en vaquillonas.

Lux, J.^{1,2}; Giménez, H.¹; Torrado, J.³; Gorozurreta, C.⁴; Poey, M.S.³; Volpi Lagreca, G.¹; Platino, A.⁴; Pallero, R.⁴; Soto, L.⁴; Romero Harry, H.¹; Mora, S.⁵ y Fort, M.⁶

¹EEA Anguil, INTA, Ruta Nacional N°5, km 580, Anguil, La Pampa.

²FCV, UNLPam, Calle 5 esq. 116, Gral. Pico, La Pampa.

³AER Victorica, INTA, calle 11 N° 726, Victorica, La Pampa.

⁴Escuela Provincial Agrotécnica Florencio Peirone, Ruta Provincial N°105 km 8, Victorica, La Pampa.

⁵EEA Rama Caída, INTA, calle El Vivero s/N°, San Rafael, Mendoza.

⁶Pampalab-AAVLD, calle 4, esquina N°5, Parque Industrial, Santa Rosa, La Pampa.

lux.juan@inta.gob.ar

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, causada por espiroquetas del género *Leptospira*. En el ganado bovino provoca abortos, infertilidad y la muerte de animales jóvenes. La vacunación constituye el método más eficaz de prevención. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta serológica generada por diferentes tipos vacunas. Veintinueve vaquillonas fueron divididas al azar en 3 grupos de 8 animales (G1, G2, y G3) y un grupo control de 5 animales (G4). Los grupos G1, G2 y G3 recibieron dos dosis de vacunas comerciales con un intervalo de 28 días, mientras que el grupo control recibió solución fisiológica. Se administraron vacunas polivalentes a G1 y G2, mientras que G3 recibió una vacuna bivalente. Para la detección de inmunoglobulinas IgG específicas contra *Leptospira* spp. se empleó una prueba de ELISA *in-house*. Al día 56, el porcentaje de animales que presentaron anticuerpos IgG fue del 0%, 37,5%, 75% y 0% para G1, G2, G3 y G4, respectivamente. Los valores del índice relativo por cien (IRPC) fueron 4,05; 18,41; 91,61 y 1,82 para G1, G2, G3 y G4, respectivamente. Sólo el IRPC de G3 (vacuna bivalente) fue significativamente diferente ($P < 0,05$) al del grupo control (G4). En este estudio se observó una producción limitada o nula de IgG en respuesta a las vacunas polivalentes. En contraste, la vacuna bivalente demostró una mayor capacidad para estimular la producción de IgG contra *Leptospira* spp.

Palabras clave: Leptospirosis, vacunas, bovinos, anticuerpos.

Evaluation of the serological response against *Leptospira* spp. using commercial polyvalent and bivalent vaccines in heifers.

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonotic disease of worldwide distribution, caused by spirochetes of the genus *Leptospira*. In cattle, it leads to abortion, infertility, and death in young



Esta obra se publica bajo licencia Creative Commons 4.0 Internacional

animals. Vaccination is the most effective method of prevention. The objective of this study was to evaluate the serological response generated by different types of vaccines. Twenty-nine heifers were randomly divided into three groups of eight animals (G1, G2, and G3) and one control group of five animals (G4). Groups G1, G2, and G3 received two doses of commercial vaccines every 28 days, while the control group received a saline solution. Polyvalent vaccines were administered to G1 and G2, while G3 received a bivalent vaccine. An in-house ELISA kit was used to detect specific IgG immunoglobulins against *Leptospira spp.* On day 56, the percentage of animals presenting IgG antibodies was 0%, 37.5%, 75% and 0% for G1, G2, G3 and G4, respectively. The IRPC was 4.05, 18.41, 91.61 and 1.82 for G1, G2, G3 and G4 respectively. Only the IRPC of G3 (bivalent vaccine) was significantly different ($P < 0,05$) from that of the control group (G4). In this study, limited or no IgG production was observed in response to the polyvalent vaccines. In contrast, the bivalent vaccine proved a greater capacity to stimulate IgG production against *Leptospira spp.*

Keywords: Leptospirosis, cattle, vaccines, antibodies.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana zoonótica de distribución mundial (Brihuega et al., 2017; Alonso-Andicoberry et al., 2001), causada por espiroquetas del género *Leptospira*. En la actividad ganadera provoca grandes pérdidas; en el ganado bovino, entre otras sintomatologías, es causal de aborto, infertilidad y puede ser causal de muerte en animales jóvenes.

La fuente de contagio es la exposición al suelo o agua contaminados con orina de animales infectados o el contacto directo con animales que tienen la infección. La humedad, las temperaturas templadas a altas y los suelos ricos en materia orgánica y ligeramente alcalinos son citados como factores que favorecen la supervivencia del microorganismo en el suelo (Alonso-Andicoberry et al., 2001). Sin embargo, la presencia de *Leptospira spp.*, no se restringe a zonas húmedas. La existencia de animales que actúan como reservorio favorecen el desarrollo de la bacteria. Al respecto, los roedores son señalados a nivel mundial como huéspedes de mantenimiento de diversos serovares (Brihuega et al., 2017). En tanto, diversos trabajos realizados en zonas semiáridas (Abate et al., 2021; Kin et al., 2015) han puesto de relevancia el rol que cumplen los animales salvajes como reservorio de la enfermedad. Por último, la presencia de tajamares, ojos de agua de libre acceso para la hacienda, o aguadas sin terraplenar favorecen la formación barro y generan condiciones propicias para la supervivencia de la bacteria.

Dentro de las medidas indicadas para la prevención de la enfermedad, se encuentran medidas higiénico-sanitarias orientadas fundamentalmente al control de roedores y manejo del rodeo, medidas de vigilancia epidemiológica destinadas a conocer la prevalencia de serovares específicos, dinámica y focos de contagio y, por último, medidas de prevención enfocadas en la vacunación de los animales (Brihuega et al., 2017). Al respecto, es importante señalar que, si bien las vacunas actuales contra *Leptospira spp.* no tienen un efecto esterilizante, pueden prevenir la sintomatología clínica (Loria et al., 2026).

La vacunación del rodeo es señalada como el método más adecuado de prevención. Existen en el mercado vacunas mono, bi o polivalentes que pueden combinarse con

agentes virales o bacterianos. Sin embargo, resulta esencial que contengan las serovariedades locales de *Leptospira* (Brihuega et al., 2017; Levett, 2001). Este aspecto es de suma importancia, en tanto la variabilidad en la composición del lipopolisacárido de la membrana se traduce en una importante diversidad antigénica (Picardeau, 2017 cit. en García et al., 2022).

Dentro de los mecanismos que se activan ante la presencia de un antígeno se encuentra la respuesta serológica humoral, que para *Leptospira* es de gran relevancia (Adler y Faine, 1977; Levett, 2001). En ese sentido, el objetivo del presente trabajo fue medir la respuesta serológica postvacunal como indicador de inmunogenicidad contra *Leptospira*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los procedimientos utilizados en el presente estudio siguieron las pautas establecidas en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales Agrícolas en la Investigación y Enseñanza Agrícola. (FASS, 2010). Asimismo, fueron avalados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE INTA CR LP SL MZ SJ, formulario N°23002).

El ensayo se realizó en la Escuela Provincial Agrotécnica Florencio Peirone, Victorica, La Pampa. Se utilizaron 29 vaquillonas Angus de 280 kg de peso vivo que no habían sido vacunadas contra *Leptospira*. Los animales permanecieron en potreros amplios (200 ha), con agua *ad libitum* y disponibilidad alimenticia adecuada (pastizal natural).

Se trabajó con 2 marcas de vacunas polivalentes comerciales diferentes y una marca de vacuna bivalente, las cuales incluían en su formulación *Leptospiras* pertenecientes principalmente al subclado P1 de la nueva clasificación (Casanovas-Massana et al., 2020; Vincent et al., 2019).

Los animales se dividieron al azar en 4 grupos, 3 grupos de 8 animales (G1, G2, y G3) y un grupo control de 5 animales (G4). A las vaquillonas de los grupos G1, G2 y G3 se les aplicaron dos dosis de la correspondiente vacuna con intervalos de 28 días. Para G1 y G2 se utilizaron vacunas polivalentes, mientras que para G3 se utilizó una vacuna bivalente. A las vaquillonas del G4 se le aplicó solución fisiológica como placebo, también con un intervalo de 28 días.

A todos los animales se les extrajo sangre 8 días antes de la primera vacunación y en el momento de la aplicación de la primera dosis de vacuna (día 0) para descartar que hubiese animales con presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. A los 28 días de la aplicación de la segunda dosis vacunal (día 56), se realizó una extracción de sangre para la determinación de anticuerpos. Las muestras de sangre fueron centrifugadas y el suero fue conservado a -21°C hasta su procesamiento. Para la detección de Inmunoglobulinas G (IgG) específicas contra *Leptospira* spp. se utilizó una prueba de ELISA *in-house*. Como controles positivos y negativos se utilizaron sueros de referencia que habían sido evaluados previamente por la técnica Microaglutinación. Para la interpretación de los resultados individuales se utilizó el índice relativo por cien (IRPC) que resulta de la siguiente fórmula: $((DO \text{ muestra} - DO \text{ control negativo}) / (DO \text{ control positivo} - DO \text{ control negativo})) \times 100$, donde DO es la densidad óptica leída. Los resultados de IRPC inferiores a 20 fueron considerados negativos, y resultados con un IRPC iguales o mayores a 20 fueron considerados positivos.

Es importante destacar que la prueba ELISA utilizada sólo detecta IgG. Estas tardan más tiempo en aparecer en comparación con las inmunoglobulinas M debido a las diferencias

en sus roles y mecanismos de producción durante la respuesta inmune. Las IgG son producidas más tarde, usualmente unas 3-4 semanas después de la exposición. Su producción es el resultado de una respuesta inmune más especializada que ocurre una vez que el cuerpo ha reconocido y respondido al antígeno.

Los datos de IRPC fueron analizados con InfoStat (Di Rienzo et al., versión 2020) mediante estadística no paramétrica (Kruskal-Wallis) ($P < 0,05$).

RESULTADOS

No se detectaron anticuerpos contra *Leptospira* spp. en ninguno de los grupos en los sangrados previos a la aplicación de la primera dosis de vacuna (0% de animales con IgG específicas).

En relación con el nivel de IgG específicas alcanzado a los 56 días (Tabla 1), es decir 28 días post aplicación de la segunda dosis de vacuna, el IRPC fue significativamente más alto ($P < 0,05$) en G3 (vacuna bivalente) en comparación G1 (vacuna polivalente) y el control (G4). El IRPC de las vaquillonas vacunadas con otra de las vacunas polivalentes (G2) fue intermedio, es decir que no se diferenció de ninguno de los grupos ($P > 0,05$). Vale destacar que, si bien no se encontraron diferencias significativas en el IRPC entre G2 y G3, sólo 3 animales de G2 resultaron positivos (37,5% de los animales vacunados), mientras que en G3 el 75% de los animales resultó positivo. En los grupos G1 y G4 no se detectaron animales (0%) con presencia de IgG específicas contra *Leptospira* spp. (Tabla 1).

Tabla 1. Número de animales con presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. e índice relativo por cien (IRPC) en suero de vaquillonas vacunadas con vacunas bi o polivalentes al día 56 (28 días post segunda dosis).

Tipo de vacuna	Grupo	n	N° animales con anticuerpos	IRPC	Media	IRPC Mediana	Rango medio
Polivalente	G1	8	0		4,05	1	9,5 a
Polivalente	G2	8	3		18,41	12,61	14,63 ab
Bivalente	G3	8	6		91,61	102,44	22,75 b
Control	G4	5	0		1,82	1,99	12,0 a

Rangos (Kruskal-Wallis) con letras diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

CONCLUSIONES

En el presente ensayo se observó que las vacunas polivalentes utilizadas generaron una escasa o nula producción de anticuerpos IgG contra *Leptospira* spp. En contraste, la respuesta inmune generada por la vacuna bivalente indicaría una mayor capacidad para estimular la producción de IgG específicas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dante Julio Albano Abraham, Daniela Pieroni Sol y Silvina Alvarez, directivos de la Escuela Provincial Agrotécnica (EPA) "Florencio Peirone" por su compromiso con el ensayo realizado, poniendo de relevancia el rol de las EPAs en la generación de conocimiento para la región.

BIBLIOGRAFÍA

- Abate, S., Tammone, A., Winter, M., Condori, E., Estein, S., Scialfa, E., Petrakovsky, J., Sanchez, M., Martinez, M., Brihuega, B. (2021). Vigilancia seroepidemiológica de *Leptospira* sp. en jabalíes (*Sus scrofa*) de vida libre capturados entre 2015 y 2019 en dos regiones diferentes de Argentina. *Anais: III Consensos Latinoamericanos En Leptospirose Animal*. Ed. Laboratório de Bacteriologia Animal. <http://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/8114>
- Adler, B., Faine, S. (1977). Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. *Infect. Immun.* 17(1):67-72. <https://doi.org/10.1128/iai.17.1.67-72.1977>
- Alonso-Andicoberry, C.; García-Peña, F.J.; Ortega-Mora, L.M. (2001). Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina (Revisión). *Investigación agraria. Producción y sanidad animales*. Vol. 16 (2):205-226. https://www.researchgate.net/publication/28124788_Epidemiologia_diagnostico_y_control_de_la_leptospirosis_bovina
- Brihuega, B.; Draghi M. G.; Farace M. I.; Francois S.; Koval A.; Petrakovsky J.; Tealdo, M. (2017). Informe sobre leptospirosis. Comisión científica sobre leptospirosis. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio Diagnóstico (AAVLD). <https://www.aavld.org.ar/documentos/6INFORME%20SOBRE%20LEPTOSPIROSIS%20%202016.pdf>
- Casanovas-Massana, A., Hamond, C., Santos, L.A., de Oliveira, D., Hacker, K.P., Balassiano, I., Costa, F., Medeiros, M.A., Reis, M.G., Ko, A.I., Wunder, E.A. (2020). *Leptospira* *Yasudae* sp. and *Leptospira* *Stimsonii* sp. Nov., Two new species of the pathogenic group isolated from environmental sources. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 70(3):1450-1456. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003480>
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- FASS. (2010). Guide For the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching, 3rd rev. Federation of Animal Science Societies, Savoy, IL, USA.
- García, F., Ciuffo, C., Urioste, V., Lockhart, B., Hamond, C., Gastal, G., Buschiazzi, A., Zarantonelli, L. (2022). Estudio de la respuesta inmune humoral inducida por la vacunación anti-leptospira spp. en bovinos naturalmente expuestos a la infección. XLIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/3095/JB2022_181-183.pdf?sequence=1
- Kin, M.S.; Brihuega, B; Fort, M.; Delgado, F; Bedotti, D., Casanave, E. B. (2015). Presence of antibodies against *Leptospira* serovars in *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae), La Pampa province, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 47(1):41-46.
- Levett, P.N. (2001). Leptospirosis. *Clinical microbiology reviews*, 14(2), 296-326. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.296-326.2001>
- Loria, J., Baldwin, C., Lilenbaum, W. (2026). From Classical Bacterins to Recombinant Vaccines: Critical Aspects of the Immune Response in Ruminants. *Microorganisms*, 14(4):790. <https://doi.org/10.3390/microorganisms14040790>
- Vincent, A.T., Schiettekatte, O., Goarant, C., Neela, V.K., Bernet, E., Thibeaux, R., Ismail, N., Khalid, M.K.N.M, Amran, F., Masuzawa, T., Nakao, R., Korba, A.M., Bourhy, P., Veyrier, F.J., Picardeau, M. (2019). Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 13(5): e0007270. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007270>