



Estudio piloto multicéntrico post-autorización sobre la seguridad de la vacuna LetiFend® en perros en España



Miró Corrales G¹, Acosta de la Corte C², Marqués de Brito N³, Ribas del Río F⁴, Tabar Rodríguez MD⁵, Iniesta Orozco V⁶, Montoya Matute A¹

¹ Dpto de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. Avda. Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid. ² Hospital Veterinario Guadimar. C/ Blasco de Garay, 2, Polígono Industrial Solucar, 41800 -Sanlúcar la Mayor. Sevilla.; ³ Clínica Ars Veterinaria. C/ Cardedeu 3. 08023 Barcelona. ⁴ Clínica Veterinaria San Jorge. C/ Timbal 32-34. 07817-Sant Jordi de Ses Salines. Ibiza, Illes Balears, Spain. ⁵ Hospital Veterinario San Vicente. Calle del Veterinario Manuel Isidro Rodríguez, 17. 03690 - San Vicente del Raspeig (Alicante). ⁶ Unidad de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura. Avda. de la Universidad, s/n. 10003 Cáceres (España).

INTRODUCCIÓN

En el perro la prevención de la leishmaniosis se puede abordar desde dos aspectos fundamentales bien delimitados: el control del vector, mediante el uso de insecticidas con acción repelente, que eviten la picadura y, por tanto, la transmisión de la infección; y el control del parásito, mediante el tratamiento de los perros enfermos y la vacunación de los animales sanos. En la Unión Europea se ha aprobado recientemente la comercialización de una vacuna frente a la leishmaniosis canina denominada LetiFend®, compuesta por Proteína Q (PQ), una proteína recombinante construida a partir de la unión de cinco fragmentos antigénicos de cuatro proteínas del parásito *Leishmania infantum* (Carcelén et al, 2009). La vacuna tiene como objetivo reducir el riesgo de desarrollar una infección activa, la enfermedad clínica o ambas, tras la exposición a *L. infantum* (LetiFend®: Summary of Product Characteristics - <http://www.ema.europa.eu/ema/>).

El objetivo del estudio fue confirmar la seguridad de la vacuna LetiFend®, con autorización de la Agencia Europea del Medicamento el pasado 18 de julio de 2016, en condiciones de campo, en perros sanos de propietario de diferentes edades, razas, sexos y zonas geográficas en España.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio multicéntrico, autorizado por la AEMPS y el correspondiente Comité Ético, se llevó a cabo bajo condiciones de “Buenas Prácticas Clínicas” en cinco clínicas veterinarias (Alicante, Barcelona, Ibiza, Madrid y Sevilla). En el estudio se incluyeron un total de 50 perros ubicados en: Alicante (n=10), Barcelona (n=10), Ibiza (n=9), Madrid (n=12) y Sevilla (n=9) (Figura 1). Se incluyeron un total de 18 machos y 32 hembras, sanos, mayores de 6 meses y de diferentes razas (22 razas puras y el resto mestizos), con rangos de pesos muy variables (entre los 4 y los 63 kg), y con edades comprendidas entre los 6 meses y los 11 años (Figura 2).

Se realizaron dos serologías cuantitativas por los métodos de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Mancianti and Meciani 1988) y ELISA anti-*Leishmania* (Ingezim® *Leishmania* Vet) (INGENASA, Madrid, Spain) (Figuras 3a y 3b). Posteriormente, todos fueron vacunados con una dosis subcutánea de LetiFend®. Se llevó a cabo un seguimiento durante 28 días, que incluyó una exploración física a lo largo de tres visitas (Días 0, 14 y 28), valorando potenciales signos clínicos en los diferentes órganos y sistemas, temperatura y peso, tolerancia local en el sitio de la inyección, y parámetros hematológicos y bioquímicos (Figura 4). Los días 0 y 28 se repitió la serología cuantitativa por ambas técnicas (IFI y ELISA). Además, en las tres visitas (Días 0, 14 y 28) se analizó el nivel de anticuerpos IgG2 frente a la Proteína Q (PQ) mediante la técnica de ELISA (Carcelén et al. 2009) (Figura 4).

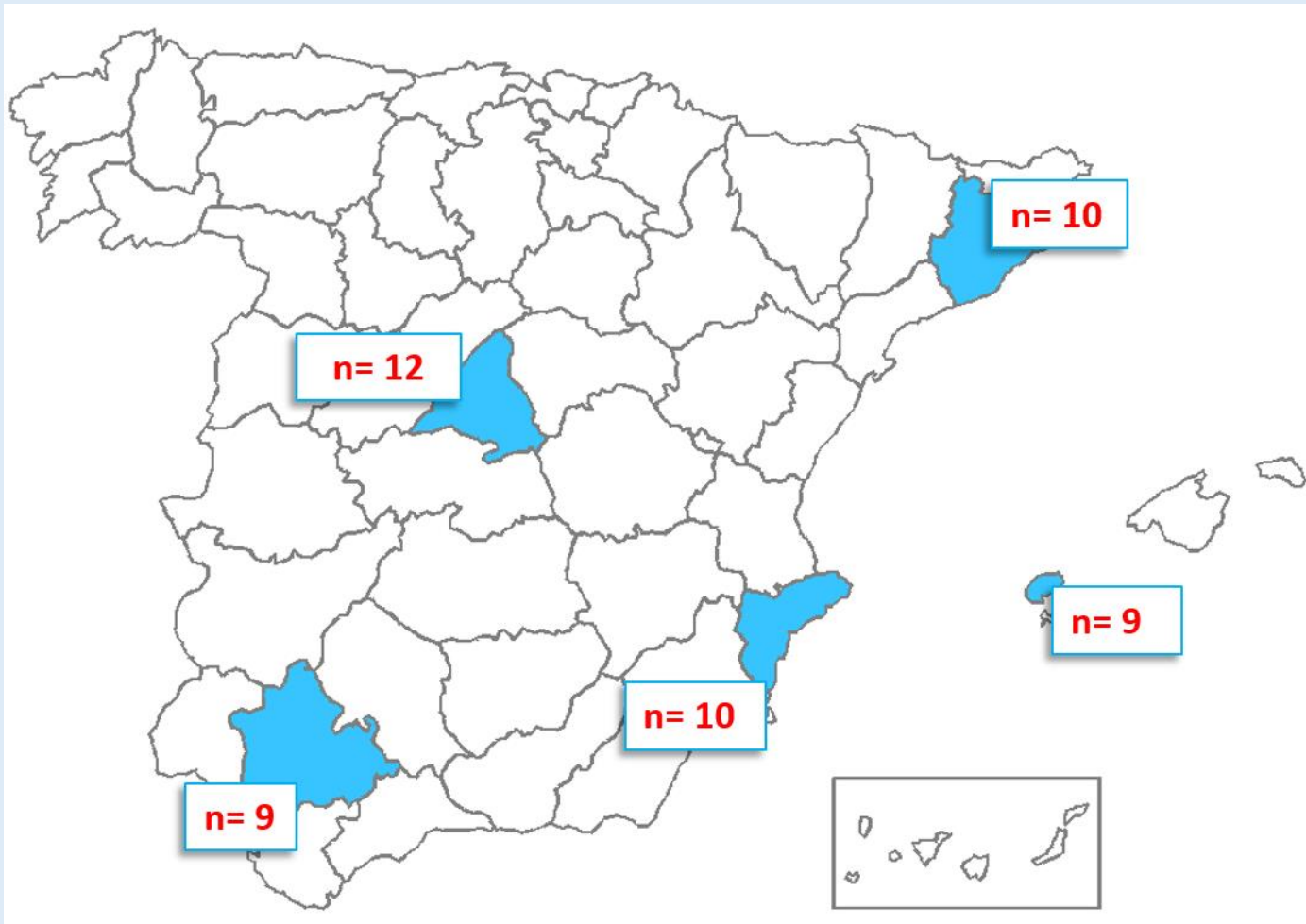


Fig. 1. Número y perros incluidos en el estudio por área geográfica.

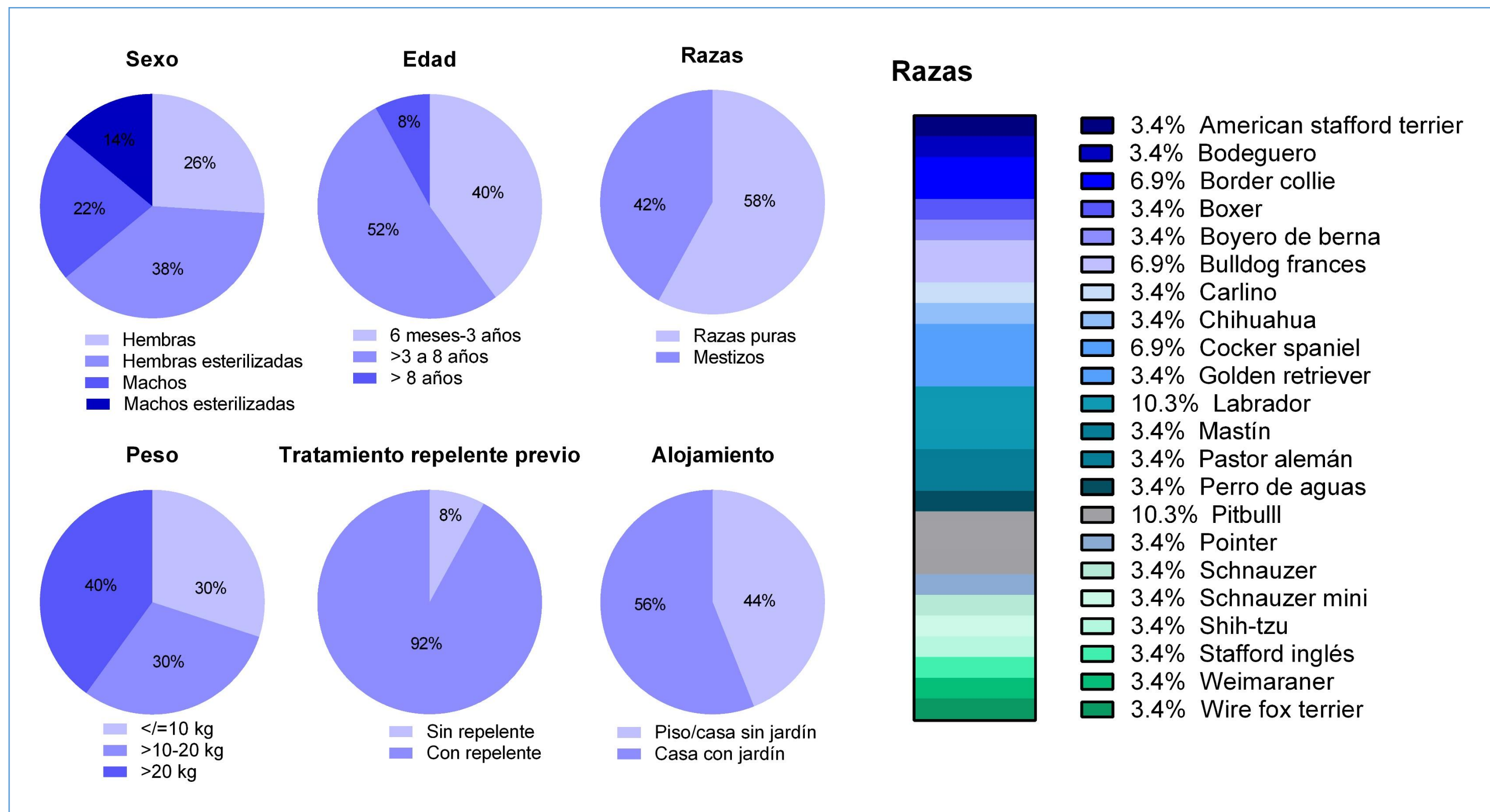


Figura 2. Características de los animales incluidos en el estudio y las variables epidemiológicas analizadas

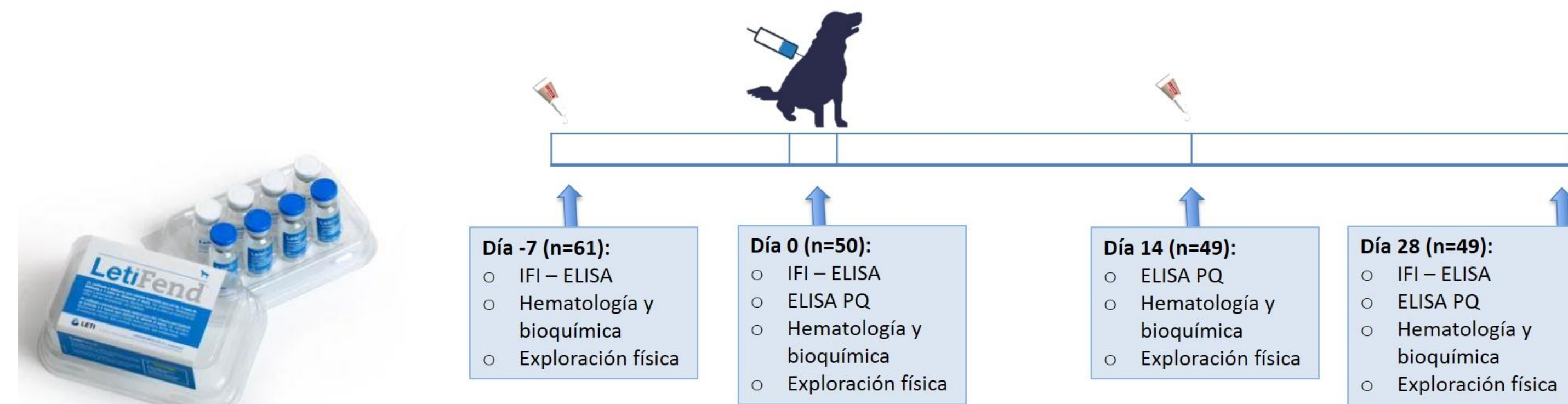


Figura 4. Cronograma del estudio y pruebas realizadas en cada visita

RESULTADOS

Tras la vacunación, ninguno de los perros experimentó reacciones adversas sistémicas asociadas a la misma; tan sólo uno de los animales presentó un ligero edema en el punto de inoculación que se resolvió sin necesidad de tratamiento en las primeras 12 horas post-vacunación.

En ninguna de las tres visitas (Días 0, 14 y 28) los perros vacunados presentaron signos clínicos evidentes en la exploración física general, en el punto de inoculación, ni alteraciones clínico-patológicas del hemograma o del perfil bioquímico. Tan sólo uno de los perros fue excluido del estudio por presentar un cuadro agudo compatible con pancreatitis; no relacionado con la vacunación administrada tres semanas antes por su carácter agudo y la posible ingesta de un tóxico reportada en la anamnesis por el propietario.

Todos los perros incluidos en el estudio fueron seronegativos a la presencia de anticuerpos anti-*L. infantum* mediante las técnicas de IFI y ELISA los días 0 y 28 (Figura 5).

Respecto al título de anticuerpos IgG2 anti-Proteína Q, se detectó un incremento máximo en el día 14, reduciéndose posteriormente (Figura 6a). Así mismo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al peso de los perros (Figura 6b).

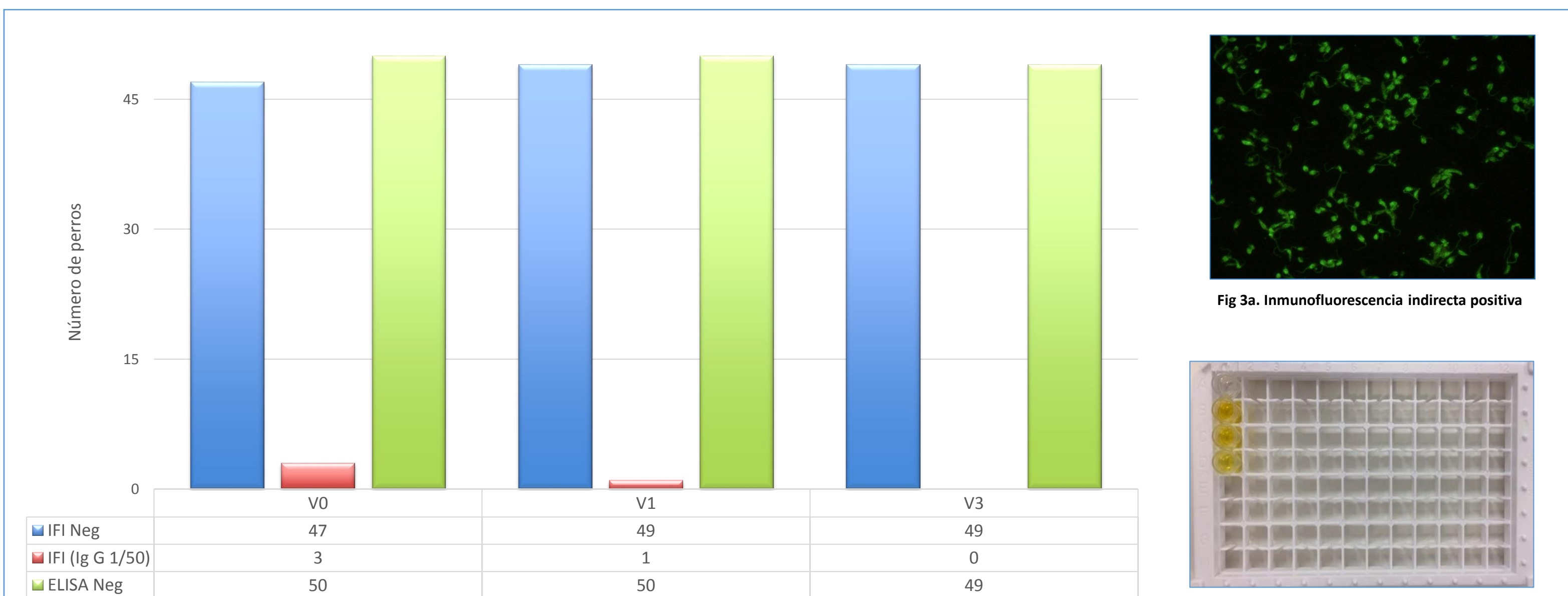


Figura 5. Resultados de la serología cuantitativa por ambas las técnicas.

ELISA PQ (OD)



Figura 6a. Evolución del título de anticuerpos IgG2 frente a la PQ

ELISA PQ (OD)

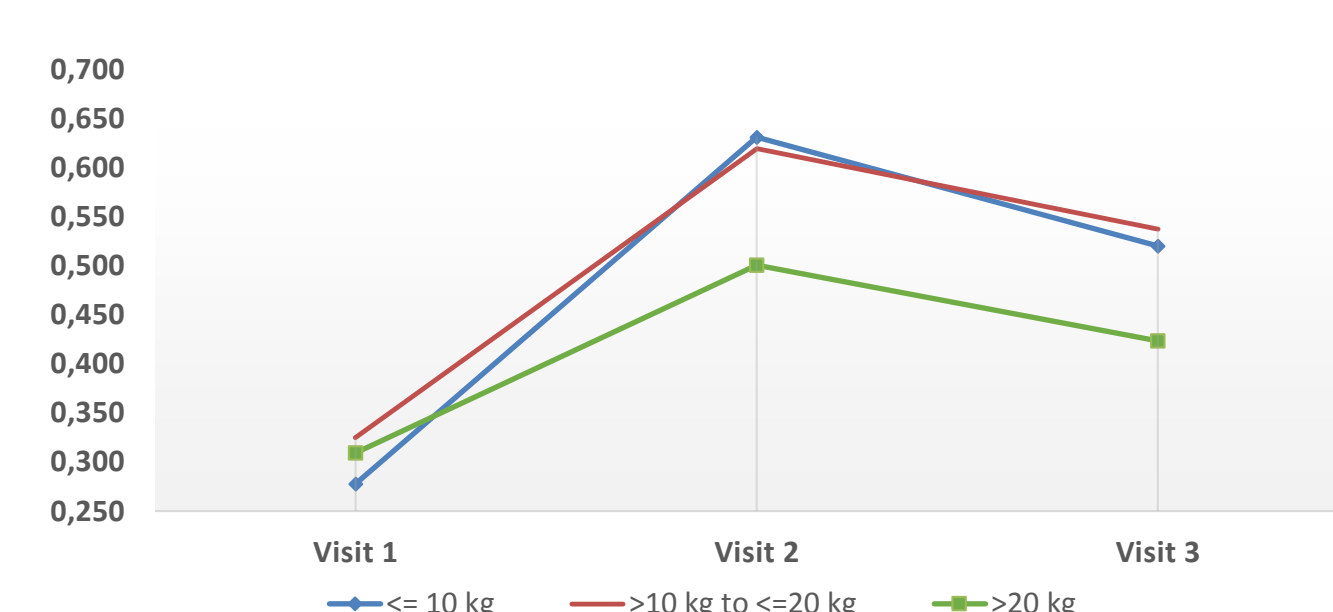


Figura 6b. Evolución del título de anticuerpos IgG2 frente a la PQ en función de la Peso

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran la seguridad de la vacuna LetiFend®, una nueva herramienta en el control de la leishmaniosis canina en perros de diferentes razas, pesos y edades, pudiendo corroborar la ausencia de alteraciones clínicas o clínico-patológicas a lo largo de los 28 días de seguimiento. Tan sólo uno de los perros presentó un edema en el punto de inoculación que desapareció antes de las 12 h. Por otro lado, en el animal que fue excluido del estudio por un proceso agudo compatible con pancreatitis no se pudo establecer una relación directa con la vacunación.

Todos los perros vacunados demostraron una buena respuesta humoral frente a la PQ, detectando niveles elevados en el día 14, lo que indica una buena reacción inmunitaria. Al igual que en estudios previos, la vacunación con LetiFend® no interfirió en la detección de anticuerpos anti-*L. infantum* mediante las técnicas serológicas cuantitativas convencionales; es decir, no existe interferencia en el diagnóstico de la leishmaniosis canina en perros vacunados enfermos (Iniesta et al., 2016).

CONCLUSIONES

La seguridad es un aspecto clave en la vacunación, al tratarse de una medida preventiva aplicada a perros sanos. Es este estudio se ha comprobado que LetiFend® es una herramienta segura en la prevención de la leishmaniosis en perros de diferentes razas, edades y pesos.

La vacuna LetiFend® no interfiere con la detección de anticuerpos anti-*L. infantum* por las técnicas de IFI o ELISA, lo cual permite la discriminación entre animales vacunados y perros naturalmente infectados.

BIBLIOGRAFÍA

Carcelén J, Iniesta V, Fernández-Cotrina J, et al (2009) The chimerical multi-component Q protein from *Leishmania* in the absence of adjuvant protects dogs against an experimental *Leishmania infantum* infection. Vaccine 27:5964–5973.
Iniesta V, Fernández-Cotrina J, Solano-Gallego L, et al (2016) Vaccination with LetiFend®, a novel canine leishmaniosis vaccine, does not interfere with serological diagnosis test. X Southern European Veterinary Conference (SEVC) y 51 Congreso Nacional de AVEPA. Granada. Spain.
Mancianti F, Meciani N (1988) Specific serodiagnosis of canine leishmaniasis by indirect immunofluorescence, indirect hemagglutination, and counterimmunoelectrophoresis. Am J Vet Res 49:1409–1411.