

**ADICION DEL DEAE-DEXTRAN EN EL ESTABILIZADOR
O EN SU DILUENTE SOBRE LA INMUNOGENICIDAD
EN LA VACUNA ANTIRRABICA, CEPA V-319/
ACATLAN EN BOVINOS**

JOSÉ E. WEIMERSHEIMER R.¹
OCTAVIO HERNÁNDEZ B.¹
RAFAEL OJEDA M.²
ELISEO HERNÁNDEZ B.¹

El DEAE-Dextran es un dietil aminoéter policatiónico de dextran con un peso molecular promedio de 500,000 y se expende con un contenido de nitrógeno aproximado de 5.2%. El DEAE-Dextran a muy bajas concentraciones (1%) ejerce su acción sobre las cargas negativas de la superficie celular, por lo tanto estimula la penetración o captura dinámica de moléculas tanto de proteínas como de ácido nucleico (Anónimo, 1973). En 1974, Bijlenga y Van den Bogard, demostraron las ventajas de agregar DEAE-Dextran como adyuvante a la vacuna antirrábica de virus vivo, V-319/Acatlán.

En 1979, García hizo un trabajo previo a éste, en el que se estudió la mejor forma de agregar este adyuvante a la vacuna antirrábica, V-319/Acatlán, desarrollada en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (Bijlenga y Hernández, 1980). Los resultados de García (1979) indican que el diluyente mantiene un pH adecuado para la viabilidad del virus, que el DEAE-Dextran no tiene efecto negativo sobre el virus

durante la liofilización y que el diluyente que contiene DEAE-Dextran conserva su actividad adyuvante después de su esterilización en autoclave. Este autor (García, 1979) concluyó que el DEAE-Dextran puede incorporarse al diluyente o al liofilizado según sea conveniente para el laboratorio productor. Posteriormente se ha encontrado que al agregar el DEAE-Dextran en el diluyente o en el liofilizado hay algunas variaciones en cuanto al título del producto, por lo cual se desarrolló este trabajo con el propósito de observar la variación en la capacidad inmunizante para animales al agregar el DEAE-Dextran en el liofilizado o en el diluyente y decidir en qué forma se debe agregar a la vacuna, ya que Bijlenga y Van den Bogard (1974) detectaron la acción adyuvante del DEAE-Dextran cuando se incorpora en el diluyente.

Este trabajo se desarrolló en el Centro Experimental de Tulancingo, Hidalgo. Se separaron 4 lotes de bovinos con 10 animales cada uno entre 6 y 12 meses de edad y con un peso promedio de 190 kg, que fueron vacunados de la siguiente forma:

Lote número 1, animales vacunados con vacuna antirrábica V-319/Acatlán con DEAE-Dextran en el liofilizado.

Lote número 2, animales vacunados con vacuna antirrábica V-319/Acatlán, con DEAE-Dextran en el diluyente.

Lote número 3, animales vacunados con vacuna antirrábica V-319/Acatlán, sin DE

Recibido para su publicación el 16 de marzo de 1982.

¹ Departamento de Investigación en Producción, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, km. 15.5 Carretera México-Toluca, México, D.F., C.P. 05110.

² Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, Zaragoza N° 75, México, D.F., Col. Lomas Altas, C.P. 11950.

CUADRO 1

Animales con anticuerpos, media aritmética y media geométrica del título de anticuerpos en bovinos de inmunizados con vacuna antirrábica V-319/Acatlán

	0 Días	8 Días	15 Días	30 Días	90 Días
Lote número 1*	0/10	5/10	6/10	9/10	10/10
DEAE-Dextran**	0	0.34	0.77	1.52	1/78
en el liofilizado***	0	1:2.19	1:5.89	1:33.2	1:69.3
Lote número 2.	0/10	6/10	7/10	8/10	9/10
DEAE-Dextran	0	0.34	0.81	1.25	1.61
en diluyente	0	1:2.19	1:6.46	1:18.8	1:49.8
Lote número 3.	0/10	5/10	8/10	9/10	9/10
Sin DEAE	0	0.34	0.85	1.31	1.31
Dextran	0	1:2.19	1:7.08	1:20.5	1:20.5
Lote número 4.	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Testigo					

* Número de animales con anticuerpos con 10 animales por cada grupo.

** Media aritmética del título de anticuerpos.

*** Media geométrica del título de anticuerpos.

AE-Dextran ni en el liofilizado, ni en el diluyente.

Lote número 4, animales testigos, sin vacunar. Los animales de cada lote fueron sangrados el día de la vacunación y a los 8, 15, 30 y 90 días posteriores a la vacunación, para determinar por la prueba de seroneutralización (Atanasiu, 1974), la tasa de anticuerpos producidos en cada fase del estudio. El virus estándar de desafío (CVS) o virus estándar de confrontación fue obtenido del Instituto Wistar de Filadelfia y proporcionado por el Departamento de Epizootiología del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. Para este estudio se preparó un lote, inoculando 200 ratones blancos de 21 días con 0.03 ml c/u.

Para titular el virus estándar de desafío se congeló una alícuota, se centrifugó a 300 g durante 5 minutos para eliminar fragmentos de tejido y detritus celulares y el sobrenadante se diluyó 1:2; considerándose esta dilución como 1:10 o 10^{-1} , se prepararon diluciones decimales desde 10^{-1} hasta 10^{-8} y se inoculó un lote de 6 ratones con cada dilución. Se observaron los animales diariamente durante 21 días y se calculó el título del virus estándar de desafío (CVS) por el método de Reed and

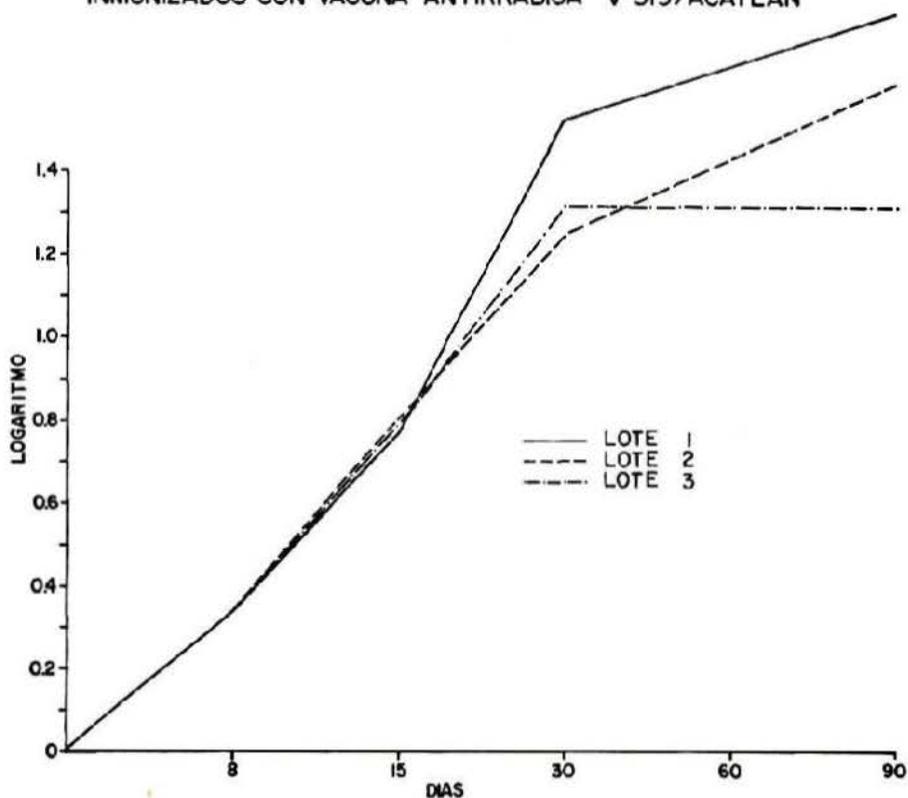
Muench Técnicas de laboratorio en rabia, Atanasiu, 1976).

El título del lote de virus estándar de desafío (CVS) fue de $10^{-7.4/0.03}$ ml. En cada prueba de seroneutralización se incluyó una titulación de virus incubado a 4C durante 90 minutos como control del virus y otra a 37C, también durante 90 minutos, a fin de poder calcular el número de dosis letales que se agregaron a cada suero. El título del virus estándar de desafío (CVS) incubado a 37C fue de $10^{7.3} \times 7^{0.8}$ ml, durante toda la serie de pruebas.

Según lo que demuestran los resultados, el producto, al adicionarle el DEAE-Dextran, favorece la penetración y el desarrollo del virus.

En el lote número 1, la tasa de anticuerpos fue ascendente hasta que a los 90 días, todos los animales presentaron anticuerpos y en los lotes 2 y 3, solamente 9 de 10 animales presentaron anticuerpos a los 90 días. Al determinar la media aritmética (Gráfica 1) y la media geométrica (Gráfica 2) se observa que en los lotes con DEAE-Dextran (lotes 1 y 2) siguen subiendo los títulos de anticuerpos hasta los 90 días, lo que no sucede en el lote vacunado sin DEAE-Dextran (lote número 3), en el que después de

GRAFICA - I
 MEDIA ARITMETICA DEL TITULO EN ANTICUERPOS EN BOVINOS
 INMUNIZADOS CON VACUNA ANTIRRABICA V-319/ACATLAN



los 30 días el título permanece constante, lo que se muestra en el cuadro número 1. En el lote número 4 o testigo no se encontró ningún animal positivo, lo que indica que no estuvieron expuestos a la rabia.

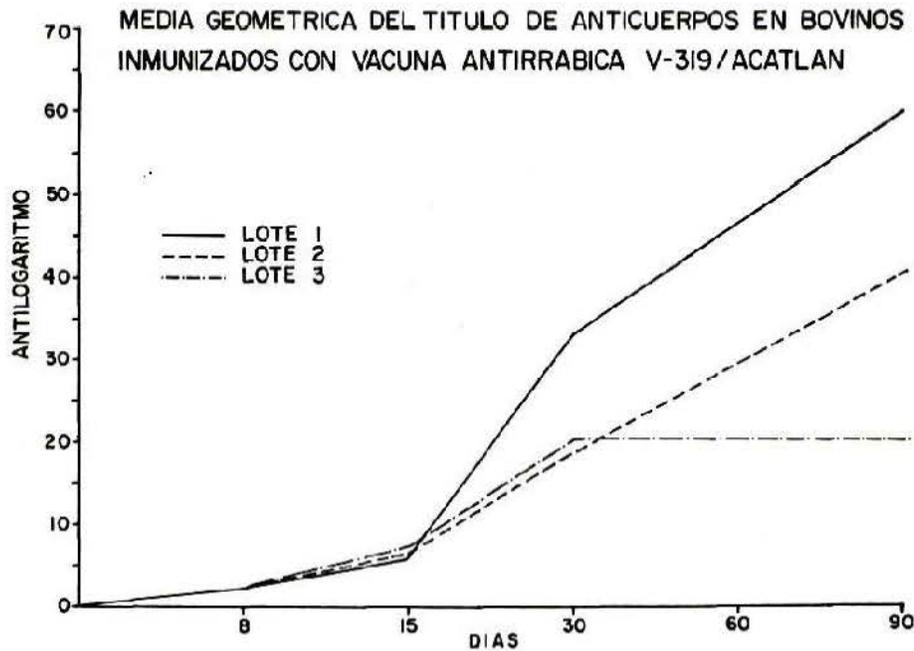
Esto permite concluir que la adición del DEAE-Dextran favorece la respuesta a la vacuna como lo habían demostrado Bijlenga y Van den Rogard (1974) al favorecer la entrada del virus a las células, y en esta forma se logra una mayor replicación del mismo. Bajo las condiciones de esta prueba, la respuesta inmunológica fue mejor cuando se agregó el DEAE-Dextran en el

liofilizado. La adición del adyuvante en el diluyente también es benéfica y podría servir para mejorar la respuesta inmune a la vacuna V-319/Acatlán en lotes elaborados con anterioridad.

Summary

Forty 6 to 12 month old heifers were divided in four groups 10 animals each. They were non vaccinated and free of rabies virus antibodies. The first group was vaccinated with a vaccine containing DEAE-dextran on the freeze dried pellet.

GRAFICA - 2



The second group was vaccinated with a vaccine containing DEAE-dextran in the diluent. The third group was vaccinated with a vaccine containing no DEAE-dextran. The fourth group was left as unvaccinated control.

The rate of antibody production in vaccinated animals was measured by seroneutralization test 8, 15, 30, 90, days after vaccination. The best antibody titer was observed in the first group, since nine out of ten animals had detectable antibodies 30 days after vaccination. The antibody titer was higher than that of groups 2 and 3.

Ninety days after vaccination all animals

from groups one and two had detectable antibodies, while nine out of ten in group three had antibodies. The unvaccinated controls remained seronegative throughout the test. This trial indicated that the addition of DEAE-dextran to the vaccine did improve the antibody response and within the conditions of the experiment the response seemed better when the DEAE-dextran was added in the pellet.

The addition of the adjuvant in the diluent is also beneficial and it can be used to improve the immune response to the vaccine previously manufactured, when added in diluent.

Literatura citada

- Anónimo, 1973, Dextran fractions; Dextran sulphate, DEAE-Dextran: deaminated polymers for biological research, Pharmacia Chemicals by *Upplands grafiska AB*, pp. 13-17, Sweden.
- ATANASIU, P., 1974, El virus de la rabia, *Salud Pública en México*, Vol. XVI, 345.
- ATANASIU, P., 1976, Titulación y prueba de potencia del suero y la inmunoglobulina antirrábica. Técnicas de laboratorio en rabia, 3ª Ed., *Organización Mundial de la Salud*, Ginebra, pp. 332-336.
- BIJLENGA, G. and VAN DEN BOGARD, 1974, Enhancement of rabies infection by diethyl aminocetyl dextran, *In vivo*, *Arch. Ges. virusforsch.*, 42:96-101.
- BIJLENGA, G. and E. HERNÁNDEZ, 1980, Adaptation, attenuation and plaque purification of rabies isolate (V-319) from vampire bat (*Desmodus rotundus*), *Cornell Vet. Research*, 70: 290-299.
- GARCÍA, 1979, Pruebas comparativas del efecto del DEAE-Dextran en estabilizador de liofilización sobre la viabilidad de la vacuna antirrábica, Cepa V-319/Acatlán, tesis de licenciatura, *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, Méx., D.F.