

**DIETILAMINOETIL-DEXTRANO (DEAE-D) COMO
ADYUVANTE DE LA INMUNIDAD. III. INFLUENCIA DE LA
CANTIDAD POR DOSIS SOBRE SU EFICACIA EN VACUNAS
ANTIAFTOSAS PARA CERDOS**

Por P. Cármenes

INTRODUCCION

En el estudio de las características químicas del DEAE-D como adyuvante, se ha precisado en trabajos previos^{3,4} que la actividad adyuvante de esta sustancia en vacunas antiaftosas destinadas a la inmunización de cerdos es directamente proporcional a su peso molecular (p.m.) y grado de sustitución (g.s.). De los DEAE-D probados por nosotros el que mejores resultados proporciona es el de p.m. $5 \cdot 10^5$ y g.s. 0,6. En nuestra opinión, con un DEAE-D de p.m. más elevado (p. ej. $2 \cdot 10^6$) y más alto g.s. (lo más cercano posible a 1) se podrían conseguir vacunas aún más eficaces sin aumento notable de las reacciones postvacunales. Sin embargo, una sustancia de este tipo no nos ha sido posible encontrarla en el mercado.

Queda por determinar, a nivel de laboratorio, cuál es la cantidad mínima y la óptima, del DEAE-D de las características químicas citadas, por dosis de vacuna.

MATERIAL Y METODOS

Las vacunas experimentales se elaboraron siguiendo la técnica descrita anteriormente³. Abreviadamente, el virus aftoso (tipos O₁ y C) se cultivó sobre una línea celular de testículo de ternero, se inactivó con etilenimina y se concentró y purificó mediante precipitación con polietilenglicol. A partir de los concentrados de virus así conseguidos, y con una cantidad de 0,2 gr por tipo y dosis, se prepararon vacunas mono y bivalentes conteniendo diferentes cantidades de DEAE-D (p.m. $5 \cdot 10^5$ y g.s. 0,6). En los cuadros de resultados se

An. Fac. Vet. León, 1979, 25, 215-220.

reseñan, para cada tipo de vacuna, el volumen de la dosis, la cantidad de DEAE-D por ml y la cantidad de DEAE-D por dosis.

Como animales experimentales se utilizaron cerdos de 20-22 kg de peso, alojados y alimentados en condiciones standard.

Las vacunas se emplearon por vía intramuscular profunda en el cuello. Cuando el volumen de la dosis fue superior a 5 ml se dividió en dos mitades que se aplicaron a cada lado del cuello.

La infección experimental se realizó por contacto de los animales experimentales, tanto vacunados como testigos, con otros inoculados masivamente y destinados a la difusión del virus del tipo correspondiente. Los resultados se consideraron definitivos a los 12 días después de haberse efectuado la inoculación del virus a los animales destinados a difundirlo. Aunque en el cómputo final de protegidos/total no se tuvo en cuenta, en todos los casos se comprobó el número de extremidades afectadas de cada animal, puesto que de, algún modo, se puede considerar como animales parcialmente inmunes aquellos que no presentan aftas nada más que en una o dos extremidades.

RESULTADOS

Resultados obtenidos con vacunas monovalentes

En las Tablas I y II se reseñan los resultados obtenidos con vacunas monovalentes O y C, después de una infección experimental realizada, según la técnica descrita, a las cuatro semanas postvacunación.

Resultados obtenidos con vacunas bivalentes

En las Tablas III y IV se recopilan los resultados obtenidos con vacunas bivalentes OC, siguiendo la metodología descrita. Para poner en evidencia el valor adyuvante real del DEAE-D y descartar un posible efecto adyuvante del

TABLA I

Vacunas monovalentes tipo O. Resultados de la infección con virus homólogo a las 4 semanas postvacunación

Tipo de vacuna	DEAE-D/dosis	N.º de animales	N.º de enfermos (extrem. con aftas)	Proteg./total	%
10 ml/dosis 50 mg D-D/ml	500 mg	8	1 (4)	7/8	87,5
5 ml/dosis 50 mg D-D/ml	250 mg	8	5 (4, 4, 4, 4, 2)	3/8	37,5
Testigos	—	4	4 (4, 4, 3, 2)	0/4	—

TABLA II

Vacunas monovalentes tipo C. Resultados de la infección con virus homólogo a las 4 semanas postvacunación

Tipo de vacuna	DEAE-D/dosis	N.º de animales	N.º de enfermos (extrem. con aftas)	Proteg./total	%
10 ml/dosis 50 mg D-D/ml	500 mg	10	2 (2, 4)	8/10	80
5 ml/dosis 50 mg D-D/ml	250 mg	11	4 (4, 4, 4, 2)	7/11	64
Testigos	—	5	4 (4, 4, 4, 3)	1/5	20

TABLA III

Vacunas bivalentes OC. Resultado de la infección con virus tipo O a las 4 semanas postvacunación

Tipo de vacuna	DEAE-D/dosis	N.º de animales	N.º de enfermos (extrem. con aftas)	Proteg./total	%
20 ml/dosis 50 mg D-D/ml	1.000 mg	14	2 (4, 3)	12/14	85,7
10 ml/dosis 50 mg D-D/ml	500 mg	14	3 (2, 2, 2)	11/14	78,6
10 ml/dosis 100 mg D-D/ml	1.000 mg	14	—	14/14	100,0
20 ml/dosis (sólo antígeno)	—	14	14 (todos 4)	0/14	—
10 ml/dosis (sólo antígeno)	—	14	13 (todos 4)	1/14	7,0

polietilenglicol, se incluyeron en esta experiencia cuatro grupos de animales, dos para cada tipo de virus, a los que se les inoculó exclusivamente el concentrado de antígeno aftoso suspendido en solución salina fosfatada, y en los mismos volúmenes que las vacunas experimentales.

TABLA IV
Vacunas bivalentes OC. Resultado de la infección con virus tipo C a las 4 semanas postvacunación

Tipo de vacuna	DEAE-D/dosis	N.º de animales	N.º de enfermos (extrem. con aftas)	Proteg./total	%
20 ml/dosis 50 mg D-D/ml	1.000 mg	5	—	5/5	100,0
10 ml/dosis 50 mg D-D/ml	500 mg	5	1 (4)	4/5	80,0
10 ml/dosis 100 mg D-D/ml	1.000 mg	5	—	5/5	100,0
20 ml/dosis (sólo antígeno)	—	5	5 (todos 4)	0/5	—
10 ml/dosis (Sólo antígeno)	—	5	3 (4, 4, 4)	2/5	40,0

DISCUSION

Los diversos autores que han empleado el DEAE-D como adyuvante en vacunas antiaftosas, no siempre han utilizado la misma cantidad de sustancia por dosis, calificando las vacunas de eficaces o no y comparando sus resultados con los de otros investigadores, sin tener en consideración este factor. ANDERSON *et al.*¹, trabajando con 100 mg por dosis y considerando que un título de anticuerpos neutralizantes de $10^{1,2}$ se corresponde con el 50 % de protección, deducen que, a partir del día 56 postvacunación, la inmunidad proporcionada por la vacuna cae por debajo del 50 %. LEUNEN⁶, con una vacuna conteniendo 250 mg de DEAE-D por dosis, encuentra una protección contra la infección experimental del 88,8 % a la 9.^a semana. WITTMANN *et al.*⁹, en un resumen de varias experiencias, con 500 mg y 1 gr de DEAE-D por dosis, obtienen como promedio los siguientes porcentajes de protección: a las 4 semanas el 94 %; a las 6-8 semanas el 76 %; a las 10-12 semanas el 72 %; a las 14-16 semanas el 53 %; a las 18-20 semanas el 68 %; y a las 24 semanas el 30 %. Estos autores señalan que la reactividad de los distintos grupos de cerdos puede presentar amplia variabilidad. Estas diferencias entre los grupos no son evidentes en los resultados que se obtienen a las cuatro semanas, pero a partir de este momento pueden darse resultados variables. Esto no parece estar en relación con la calidad de la vacuna, pues la misma vacuna puede proteger a un elevado porcentaje de animales en un grupo, y pocos en otro. BAUER *et al.*², trabajando con 1 gr, 750 y 500 mg, no encuentran diferencias significativas, obteniendo protecciones medias del 84 % contra el tipo 0 y 85 % contra el tipo C, tres meses postvacunación, con los tres tipos de vacuna. TURUBATOVIC *et al.*^{7,8} consiguen resultados aceptables con 500 mg por dosis.

De los resultados obtenidos en las experiencias que se describen en este trabajo deducimos que 250 mg de DEAE-D por dosis de vacuna son insuficientes, más si se tiene en cuenta que esta cantidad se empleó con vacunas monovalentes.

Cantidades de 500 mg de DEAE-D por dosis permitieron superar siempre el 80 % de protección tanto con vacunas monovalentes como bivalentes, excepto en el caso de una vacuna bivalente que protegió el 78,6 % de los cerdos vacunados contra la infección experimental con el virus tipo O. Esta cantidad, por tanto, podría ser considerada como la mínima que debiera contener una dosis.

Sin duda alguna, 1 gr de DEAE-D por dosis es la cantidad que proporciona mejores resultados, con protección del 100 % de los animales a las cuatro semanas postvacunación. Con esta cantidad la tasa de protección continúa siendo aceptable a las 12 semanas postvacunación, según hemos podido demostrar en otro trabajo⁵.

El volumen de la dosis no parece influenciar de manera significativa la eficacia de las vacunas. Como, por otra parte, la reacción local y general fue muy semejante, y dentro de niveles aceptables, tanto con 500 mg como con 1 gr, parece lo más adecuado reducir el volumen al máximo posible, siempre y cuando la viscosidad no sea excesiva y dificulte el manejo de la vacuna.

Como observación marginal, parece que queda descartado cualquier efecto adyuvante del polietilenglicol, como lo demuestra la prácticamente nula protección conseguida con la inoculación de antígeno aftoso obtenido por precipitación con esta sustancia.

RESUMEN

Se ha estudiado la influencia de la cantidad de DEAE-D por dosis sobre la eficacia de vacunas antiaftosas para cerdos, tanto mono como bivalentes. Según nuestros resultados, la cantidad mínima de DEAE-D (peso molecular 500.000 y grado de sustitución 0,6) que debe contener una dosis de vacuna antiaftosa para superar el 80 % de protección contra una infección experimental, es de 500 mg. Los resultados óptimos se han conseguido con 1 gr.

DIETHYLAMINOETHYL-DEXTRAN (DEAE-D) AS AN ADJUVANT IN THE STIMULATION OF IMMUNITY. III. INFLUENCE OF THE AMOUNT PER DOSIS ON THE EFFICIENCY IN SWINE FMD VACCINES

SUMMARY

The influence of the amount of DEAE-D per dosis on the efficiency of both mono and bivalent swine foot-and-mouth disease vaccines has been

studied. Our results indicate that the vaccines must contain a minimum amount of 500 mg DEAE-D (M.W. 500,000 and substitution degree 0.6) in order to improve the protection over the 80 % against the experimental infection. However, optimum results were obtained when using 1 gr DEAE-D.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ANDERSON, E. C., MASTERS, R. C. y MOWAT, G. N. (1971).—Immune response of pigs to inactivated foot-and-mouth disease vaccines. Response to DEAE-Dextran and Saponin adjuvanted vaccines. *Res. vet. Sci.*, **12**: 351-357.
- 2) BAUER, K., WITTMANN, G., GEILHAUSEN, H. e IRION, E. (1974).—Die Schutzimpfung von Schweinen mit einer DEAE-Dextran-haltigen, bivalenten Maul-und Klauenseuche-vakzine. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, **87**: 170-173.
- 3) CÁRMENES, P. (1978).—Diethylaminoetil-dextrano (DEAE-D) como adyuvante de la inmunidad. I. Influencia del peso molecular sobre su acción adyuvante en vacunas antiaftosas para cerdos. *An. Fac. Vet. León*, **24**: 95-108.
- 4) CÁRMENES, P. (1980).—Diäthylaminoäthyl-Dextran (DEAE-D) als Adjuvans der Immunitätsausbildung. II. Einfluss des Substitutionsgrades auf die Adjuvanswirkung in MKS-Vakzinen. *Tierärztl. Umsch.* **35**: 212-220.
- 5) CORDERO, M., CÁRMENES, P. y MARTÍNEZ, A. (1972).—Field and laboratory studies on an FMD vaccine for pigs, prepared with EEI as inactivant and DEAE-Dextran as adjuvant. *Rep. Meet. Stand. Tech. Comm., Europ. Comm. FMD*, F.A.O., Roma.
- 6) LEUNEN, J. (1972).—Fièvre aphteuse. Vaccin pour porcs. *An. Méd. Vét.*, **116**: 351-360.
- 7) TURUBATOVIC, R., ERCEGOVAC, D. y PANJEVIC, D. (1974).—Ethylethyleneimine as an inactivator and diethylaminoethyl-dextran as an adjuvant in vaccines against foot-and-mouth disease in swine. *Acta veter.*, Belgrado, **24**: 7-10.
- 8) TURUBATOVIC, R., ERCEGOVAC, D., PANJEVIC, D. y LOLIN, M. (1972).—Diethylaminoethyl-dextran as an adjuvant in vaccines against foot-and-mouth disease in swine. *Acta veter.*, Belgrado, **22**: 151-155.
- 9) WITTMANN, G., BAUER, K. y MUSSGAY, M. (1972).—A survey on experiments on vaccination of pigs against foot-and-mouth disease virus with the aid of EEI/DEAE-dextran vaccines which have been done in the Federal Research Institut for Animal Virus Diseases in Tübingen for the last 3 years. *Rep. Meet. Stand. Techn. Comm., Europ. Comm. FMD*, F.A.O., Roma.