



XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-009 (ID: 1889)

Autor: Solis, Jose Alberto

Título: Deshidratación y reconstitución de eritrocitos parasitados con babesia SPP. Para su uso como inmunoproláctico

Director: Lozina, Laura Analia

Palabras clave: Babesia spp., liofilización, spray-dryin, inmunoprolifaxis

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Pregrado

Periodo: 01/03/2020 al 01/03/2021

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (17B015) Diseño y desarrollo de fármacos e inmunobiológicos para uso veterinario. Técnicas de diagnóstico, eficacia clínica, cinética y control de calidad.

Resumen:

Con el objetivo de poder desarrollar una alternativa inmunoproláctica frente a la babesiosis bovina a partir de material deshidratado, en el presente trabajo se realizaron y compararon distintas técnicas de deshidratación de glóbulos rojos (GR) parasitados con Babesia spp. como medio de conservación del hemoparásito. Para esto, se iniciaron cultivos in vitro a partir de eritrocitos parasitados con Babesia bovis R1A y Babesia bigemina S1A, cepas vacunales, criopreservadas. Mediante centrifugación, se descartó el sobrenadante (SN), y el paquete globular (PG) fue mezclado en partes iguales con distintas soluciones criopreservadoras: Dimetilsulfóxido (DMSO), Polivinilpirrolidona (PVP), Glicerol y Dextrosa. Las suspensiones así obtenidas fueron sometidas al proceso de deshidratación por liofilización. Se incluyó además la técnica de deshidratación por spray-drying, en la cual no es necesaria la utilización de sustancias crioprotectoras. Mediante ambos procesos de deshidratación, se obtuvo un polvo fino y uniforme. Posteriormente, dicho material fue rehidratado con solución buffer fosfato (PBP), solución Vega y Martínez (VYM), solución fisiológica, agua destilada y solución de sacarosa 0,25, 0,50 y 1 M. Los GR así reconstituidos, fueron evaluados respecto a morfología e integridad de membrana mediante microscopía óptica (MO) por extendidos teñidos con Giemsa y microscopía de barrido electrónico (MEB). En las condiciones de trabajo, el crioprotector más adecuado para el proceso de liofilización fue la PVP, que permitió una correcta deshidratación del material, no logrando resultados favorables al usar glicerol, DMSO y dextrosa. La reconstitución del PG liofilizado dejó en evidencia que la solución de sacarosa 0,25 M y el PBS presentaron un alto porcentaje de recuperación relativa, logrando observar hasta un 50% de eritrocitos liofilizados con morfología conservada al utilizar el primero, bajando dicha tasa de recuperación a 30% con PBS. Por su parte, los demás reconstituyentes no lograron proveer un medio adecuado para la rehidratación del PG. Mediante la técnica de spray-drying se logró una adecuada deshidratación de las distintas suspensiones, sin embargo, no se logró un porcentaje de recuperación celular considerable con ninguna de las soluciones de rehidratantes. Por otro lado, la observación del reconstituido utilizando MEB evidenció eritrocitos aislados con una morfología relativamente conservada al usar PBS como disolvente, siendo en segundo lugar la solución de sacarosa 0,25 M y posteriormente la solución salina los mejores reconstituyentes para ambos deshidratados. El tamaño de los eritrocitos osciló entre 3 a 5 micras, pudiéndose apreciar una reducción entre el 20 a 50% de su tamaño normal. Estos resultados, alientan a la continuar con la puesta a punto de las técnicas de conservación propuestas, ya que, si los GR son capaces de mantener su morfología, un comportamiento similar podría esperarse para los hemoparásitos.