



XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-005 (ID: 1875)

Autor: Del Río Alvarez, Florencia

Título: Inoculación de eritrocitos parasitados con Babesia spp. Deshidratados por aspersión

Director: Lozina, Laura Analia

Palabras clave: Babesiosis, deshidratación por aspersión, inmunoprofilaxis, adyuvante.

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Iniciacion

Periodo: 01/03/2018 al 31/03/2021

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:

El objetivo del presente trabajo consistió en la evaluación de una nueva presentación para la inmunoprofilaxis de la babesiosis bovina, basada en eritrocitos parasitados con *Babesia bovis* y *B. bigemina*, deshidratados por aspersión, evaluando la actividad inmunogénica y respuesta clínica, así como efectos adversos del adyuvante incorporado. Para ello, eritrocitos parasitados fueron obtenidos a partir de cultivos in vitro de *B. bovis* y *B. bigemina*, cepas vacunales. Una vez logradas parasitemias superiores a 10% y 7% para *B. bovis* y *B. bigemina*, respectivamente, los eritrocitos fueron centrifugados a 2500 rpm durante 10 min a 4°C, se desechó el sobrenadante (SN) y el paquete globular (PG) fue colectado para su secado por aspersión en un Mini Spray Dryer Buchi B-290 (BÜCHI Labortechnik AG.). Dicho procedimiento, fue realizado en la Facultad de Ciencias Químicas- UNC, bajo condiciones controladas, a saber: temperatura de ingreso: 45°C, aspiración: 75%, bomba: 5%, nozzle cleaner: 2 rotámetro: 50 mmHg. Finalizada la deshidratación, el material se mantuvo a 4°C hasta su uso. Posteriormente, en la FCV-UNNE, las muestras fueron ensambladas mediante la incorporación de los componentes en tubos herméticamente cerrados, para lo cual se inició pesando el PG deshidratado parasitado con *B. bovis* y *B. bigemina* por separados, en una concentración equivalente a 1×10^8 (100.000.000) eritrocitos parasitados. El adyuvante, palmitato de ascorbilo (ASC16), también fue pesado e incorporado al 2%, junto con el diluyente, dextrosa al 2%. Las suspensiones, así constituidas, fueron homogeneizadas en vórtex y luego calentadas a 80°C en un baño maría, hasta alcanzar la temperatura micelar crítica (TMC) y nuevamente homogeneizadas. Finalmente, se las dejó en reposo hasta tomar temperatura ambiente, momento en el cual se produce el ensamblado del adyuvante incorporando el antígeno, formando así el gel. Mismo procedimiento fue aplicado a tubos sin eritrocitos parasitados, los cuales constituyeron el grupo control. Cuatro grupos de animales fueron inoculados por vía SC, con un intervalo de 15 días, distribuidos aleatoriamente de la siguiente manera: Grupo 1 (G1): n=3 terneros sin inocular; Grupo 2 (G2): n= 3 terneros inoculados con ASC16; Grupo 3 (G3): n= 3 terneros inoculados con PG parasitados con *B. bovis* + ASC16 y Grupo 4 (G4): n= 3 terneros inoculados con PG parasitados con *B. bigemina* + ASC16. A partir de la segunda inoculación, los terneros fueron inspeccionados diariamente para evaluar su estado de salud. Se realizaron controles en busca de reacciones locales en sitio de inoculación, medición de temperatura rectal (diariamente hasta el día 21, luego cada 7 días), determinación de hematocrito y parasitemia semanalmente. Se tomaron muestras de sangre con EDTA para evaluar hemograma completo y bioquímica sérica (realizado cada 15 días en el laboratorio del Hospital de Clínica de Pequeños Animales, FCV-UNNE). Se tomaron muestras de sangre los 30 y 60 días post-inoculación para titulación de anticuerpos por ELISA, lo que se constituyó prueba serológica suficiente para asegurar la capacidad inmunogénica de la vacuna. Estas muestras fueron procesadas por la Estación Experimental de INTA – Rafaela. Durante el seguimiento de los grupos experimentales, todos los animales se mantuvieron dentro de los parámetros normales para la especie, respecto a temperatura, hematocrito y hemograma, sin presencia de inflamación, enrojecimiento, aumento de temperatura local o abscesos en el sitio de inoculación. En los frotis sanguíneos (extendido y gota gruesa) teñidos con Giemsa y observados al microscopio óptico no se pudo evidenciar la presencia de hemoparásitos. La actividad inmunogénica, evaluada por técnicas de ELISA, evidenció a los 30 días post inoculación, la ausencia de titulación de anticuerpos frente a *Babesia* spp. para todos los grupos. Sin embargo, al día 60, el 33% de los animales del grupo GT3 (inoculado con PG con *B. bigemina* +ASC16), presentó anticuerpos frente a este hemoparásito, manteniéndose los demás grupos negativos. En el presente trabajo no se pudo obtener una fórmula que logre una respuesta humoral en todos los animales vacunados. De los 6 individuos vacunados con hemoparásitos (GT2 y GT3) solo un animal presento anticuerpos específicos contra *B. bigemina*, si bien el resultado es muy bajo, no es del todo desalentador ya que, si un animal pudo reaccionar a la vacuna presentando títulos de anticuerpos específicos para ese hemoparásito, demuestra el poder antigénico de la misma. Para la interpretación de estos resultados, se debe tener en cuenta que esta alternativa inmunoprofiláctica es totalmente nueva, y todavía está en las primeras fases de su investigación y experimentación en bovinos, ya que fue formulada para humanos y hasta la fecha, solo experimentada en ratones.