

INOCULACIÓN DE ERITROCITOS PARASITADOS CON *Babesia* spp. DESHIDRATADOS POR ASPERSIÓN

Área del Conocimiento: Ciencias Agropecuarias

Becario/a: MV. DEL RÍO ALVAREZ, FLORENCIA

Director/a: Dra. LOZINA, LAURA

Facultad: Ciencias Veterinarias

E-mail: delrioalvarezflores@gmail.com

Objetivo

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.

Materiales y Métodos

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%, respectivamente, los eritrocitos fueron centrifugados. El sobrenadante (SN) fue removido y el paquete globular (PG) fue colectado para su secado por aspersión en un Mini Spray Dryer Buchi B-290 (BÜCHI Labortechnik AG) (Fig. 1) en la Facultad de Ciencias Químicas- UNC. Posteriormente, en la FCV-UNNE, las muestras fueron ensambladas mediante la incorporación de los componentes. Se fraccionó el PG en una concentración equivalente a 100.000.000 eritrocitos parasitados. El adyuvante, palmitato de ascorbilo (ASC16), también fue pesado e incorporado al 2%, junto con el diluyente, dextrosa al 5%. Las suspensiones, así constituidas, fueron homogeneizadas y calentadas, hasta alcanzar la temperatura micelar crítica (TMC). 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 (Fig. 3). Mismo procedimiento fue aplicado a tubos sin eritrocitos parasitados, los cuales constituyeron el grupo control (Fig. 4). Cuatro grupos de animales (n=3) fueron inoculados por vía SC, con un intervalo de 15 días, distribuidos aleatoriamente de la siguiente manera: Grupo 1 (G1): terneros sin inocular; Grupo 2 (G2): terneros inoculados con ASC16; Grupo 3 (G3): terneros inoculados con PG parasitados con *B. bovis* + ASC16 y Grupo 4 (G4): terneros inoculados con PG parasitados con *B. bigemina* + ASC16 (Fig. 5). 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, determinación de hematocrito y parasitemia. Se tomaron muestras de sangre con EDTA para evaluar hemograma completo y bioquímica sérica (realizados en el Laboratorio de Análisis Clínicos de FCV-UNNE), y sin anticoagulantes a 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.



Fig. 1: Spray-dryer Buchi B-290.



Fig. 2: Resultado del proceso de deshidratación.

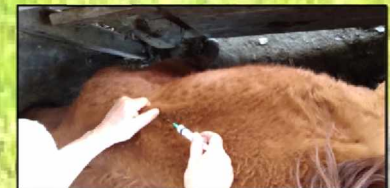


Fig. 3: Paquete globular parasitado con *Babesia* spp., deshidratado y reconstituido con adyuvante.



Fig. 4: Adyuvante rehidratado con dextrosa 5%.

Fig. 5: Inoculación SC en bovinos experimentales.



Resultados y Discusión

Durante el seguimiento de los grupos experimentales, todos los parámetros evaluados se mantuvieron normales, sin registro de alteraciones en el sitio de inoculación, ni parasitemia en los frotis. La actividad inmunogénica, evaluada por técnicas de ELISA, evidenció a los 0 y 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 presentaron 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 presentó 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.

Bibliografía

- Echaide, L. E.; De Echaide, S. T.; Guglielmo, A. A. (1993). Live and soluble antigens protection to *Babesia bigemina*. Veterinary parasitology. 51, 35-40.
- Sánchez Vallecillo, M. F. (2014). Vacunas: Nanoestructura de tipo cristal líquido como sistema portador del adyuvante CpG-ODN para la inducción de una respuesta inmune. Tesis Doctoral- Facultad de Ciencias Químicas-Universidad Nacional de Córdoba.
- Fish, L.; Leibovich, B.; Krigel, Y.; Mcelwain, T.; Shkap, V. (2008). Vaccination of cattle against *B. bovis* infection with live attenuated parasites and non-viable immunogens. Vaccine. 26, 29-33.