

EXPERIENCIA SOBRE POSIBILIDADES DE LIOFILIZAR SANGRE PARA LA PREMUNICIÓN DE BOVINOS CONTRA LAS PIROPLASMOSIS

JOSÉ M. PETRUCCELLI *

A raíz de la publicación en **GACETA VETERINARIA** de marzo-abril de 1948, de un trabajo del Dr. C. Stura, titulado "Posibilidad de emplear sangre liofilizada en la premunición de bovinos", el Servicio de Preparación de virus-vacuna contra la tristeza, del Laboratorio de Biología Animal "Dr. Miguel C. Rubino", realizó la experiencia referida, dadas las innumerables ventajas que en materia de premunición reportaría la liofilización de sangre virulenta.

El fundamento del procedimiento empleado por el autor citado, consiste en la desecación de la sangre por el congelamiento y el alto vacío.

Fué nuestro propósito verificar si el mismo no vulneraba la capacidad premunizante de los virus-vacuna y no alteraba las propiedades biológicas de los hemocitozoarios responsables de la Tristeza.

En la mayoría de las experiencias realizadas, se siguió la técnica preconizada por el Dr. Stura; la cual se sintetiza a continuación: la sangre virulenta, destinada a ser liofilizada, es desfibrinada y filtrada, dejándose durante 24 horas a temperatura ambiente, después 48 horas a una temperatura de 5°-7° centígrados, y por último 48 horas a temperatura de 1° a 2° C.; terminada esta etapa, la sangre se distribuye en ampollas de vidrio, de 25c.c. de capacidad, colocando 10 c.c. de sangre en cada una, procediéndose luego a la congelación, sumergiendo las ampollas en una mezcla eioquímica (alcohol-nieve carbónica), congelándose la sangre a 1-2 grados bajo cero.

Por último se procede al desecado, adaptando las ampollas al aparato de alto vacío durante tres horas; una vez transcurrido ese lapso, se cierran las mismas, quedando la sangre en forma de polvo, ya pronta para ser utilizada, debiéndose en tal caso restituírle agua destilada, hasta su volumen original.

En otras experiencias, se introdujeron pequeñas variantes a la técnica antes citada.

Todas las experiencias se efectuaron con animales vírgenes, de procedencia conocida y en algún caso se empleó el isodiagnóstico, para mayor seguridad.

La sangre virulenta destinada a ser liofilizada, se obtuvo de dos animales de 18 meses de edad (tatuados N° 60 y 73), inoculados con sangre infestante, a los que se controló en cuadro hemático y clínico, apareciendo a los seis días de inoculados el acceso térmico y a los siete días el acceso parasitario, comprobándose abundante cantidad de hemocitozoarios en la sangre periférica.

Durante 7-8 días se establece el acceso, disminuyendo luego gradualmente el número de glóbulos rojos parasitados.

* Encargado del Servicio de Preparación de Virus del Laboratorio de Biología Animal "Dr. M. C. Rubino".

A los veinte y dos días de inoculados, se extrac por punción de la yugular, 100 c.c. de sangre, la que es desfibrinada y liofilizada según el método referido. Con el liofilizado, se inocula por vía endovenosa, dos bovinos de tres años de edad (tatuados 76 y 79), a la dosis de 30 c.c. y 20 c.c., respectivamente, controlándose diariamente en cuadro hemático y clínico durante 25 días, no registrándose reacción térmica ni parasitaria. Trauseurrida esta etapa, se tomó el bovino N° 76 y se reinoculó por vía subcutánea con 5 c.c. de sangre virulenta sin liofilizar controlándose, a partir de ese momento, su cuadro hemático y clínico, habiéndose registrado al cuarto día 41° C. y al séptimo día la presencia de numerosos parásitos endoglobulares, que aumentan gradualmente su número, agravando el estado del animal, lo que obligó a su tratamiento quimioterápico.

En lugar de emplear sangre total desfibrinada, se utilizaron solamente los glóbulos rojos de sangre virulenta, los que fueron liofilizados e inoculados a dos bovinos de tres años de edad (tatuados 77 y 70), con los siguientes resultados: El número 77 fué inoculado por vía endovenosa con 20 c.c. del liofilizado, al que previamente se le restituyó el volumen con agua destilada, haciéndose control diario de su cuadro hemático y clínico durante 18 días, sin que se registrara ninguna novedad; reinoculando luego con 5 c.c. por vía subcutánea con virus-vacuna (virus atenuado) registrándose, a partir del quinto día, elevación de temperatura a más de 40,5° C. la que se mantiene durante varios días, observándose en la sangre circulante periférica la presencia de *Piroplasmas Bigéminas*.

El bovino N° 70 se inoculó por vía endovenosa con 15 c.c. del mismo liofilizado, el que fué conservado a temperatura ambiente durante 33 días, no observándose ni reacción térmica ni parasitaria.

Los elementos formes de la sangre virulenta, obtenidos en las mismas condiciones de la experiencia anterior, son liofilizados inmediatamente, vale decir, sin su pasaje por las cámaras frías e inoculado por vía endovenosa a una dosis correspondiente a 50 c.c. de sangre virulenta, a un bovino, de tres años de edad (tatuado 80) que se controla diariamente, sin observarse la presencia de hemocitozoarios en la sangre circulante. A los 20 días, por punción de la yugular, se le extrac al bovino inyectado 500 c.c. de sangre, la que es desfibrinada y luego centrifugada, tomándose el sedimento globular, el que es lavado tres veces con solución fisiológica, llevado luego a un volumen de 300 c.c. e inoculado por vía endovenosa a un bovino de 16 meses (tatuado 68), al que previamente se le había practicado el isodiagnóstico. Este bovino fué controlado diariamente durante 30 días, sin observarse en su sangre circulante periférica la presencia de hemocitozoarios.

A cinco bovinos de 12 a 15 meses de edad (tatuados N° 63, 65, 67, 69, 64), inoculados por vía subcutánea con sangre virulenta liofilizada en idénticas condiciones que anteriormente, con dosis que oscilan entre 10 c.c. y 20 c.c., fueron controlados durante 30 días, no reaccionando ni térmica ni parasitariamente, mientras que cuatro bovinos (tatuados 61, 62, 71, 73), de la misma edad, inoculados por idéntica vía con el mismo virus sin liofilizar, conservado durante cinco días a temperatura ambiente (9° a 15° C.) en dosis de 10 c.c., reaccionaron todos positivamente.

Debe consignarse que las experiencias realizadas hasta ahora se refieren al liofilizado de sangre virulenta con *Piroplasma Bigéminum* y *Babesiola*, prosiguiéndose las experiencias sobre liofilizado de sangre con *Anaplasma marginal*.

Cuadro N° 1

Sangre liofilizada el 1° de agosto de 1950
Inoculada el 2 de agosto (vía endovenosa)

Bovino N°	Cantidad de sangre liofilizada inoculada	Resultados
76	30 c.c.	Acceso de invasión: negativo
79	20 c.c.	Acceso de invasión: negativo
Examen microscópico de la sangre periférica: negativo .		

Cuadro N° 2

Glóbulos de sangre virulenta liofilizada el 1° de agosto de 1950
Inoculadas el 2 de agosto de 1950 (vía endovenosa)

Bovino N°	Cantidad de glóbulos liofilizados inoculados	Resultado
77	20 c.c.	Negativo
Examen microscópico de la sangre periférica: negativo .		

Glóbulos de sangre virulenta liofilizada el 9 de agosto
Inoculadas el 11 de setiembre de 1950 (vía endovenosa)
Conservación 33 días a temperatura ambiente

Bovino N°	Cantidad de glóbulos liofilizados inoculados	Resultado
70	15 c.c.	Negativo
Examen microscópico de la sangre periférica: negativo .		

Cuadro N° 3

Glóbulos de sangre virulenta sangría 9 de agosto 1950, liofilizado 10-8-50
Inoculado el 11 de agosto de 1950 (vía endovenosa)

Bovino N°	Cantidad de glóbulos liofilizados inoculados	Resultado
81	50 c.c.	Negativo
Examen microscópico de la sangre periférica: negativo .		

Cuadro N° 4

Sangre liofilizada el 16 y 29 de junio de 1950
Inoculada el 1° de julio de 1950 (vía subcutánea)

Bovino N°	Cantidad de sangre liofilizada inoculada	Resultados
63	10 c.c.	Acceso de invasión: negativo
65	10 c.c.	Acceso de invasión: negativo
67	10 c.c.	Acceso de invasión: negativo
69	10 c.c.	Acceso de invasión: negativo
64	20 c.c.	Acceso de invasión: negativo

Examen de la sangre periférica: negativo.

Cuadro N° 5 (testigos)

Sangre desfibrinada el 25 y 29 de junio de 1950
Inoculada el 1° de julio de 1950 (vía subcutánea)

Bovino N°	Cantidad de sangre desfibrinada inoculada	Resultado
61	10 c.c.	Acceso de invasión: 7/7/950
62	10 c.c.	Acceso de invasión: 7/7/950
71	10 c.c.	Acceso de invasión: 7/7/950
73	10 c.c.	Acceso de invasión: 7/7/950

Inubnección del proceso: 6 días.

Examen microscópico de la sangre periférica: positivo; presencia de Piroplasma Bigéminum.

CONCLUSIONES

1º) El liofilizado de sangre virulenta (Técnica Dr. Stura) inoculado por vía endovenosa o subcutánea a bovinos sensibles, no produjo reacciones térmicas, parasitarias ni síntomas clínicos.

2º) Sedimento globular de sangre virulenta, liofilizado e inoculado en dosis masivas por vía endovenosa, dió resultados negativos.

3º) Reinoculando con sangre virulenta sin liofilizar, a bovinos que habían recibido anteriormente la misma sangre, pero liofilizada, dieron reacciones térmicas y parasitarias positivas, lo que prueba que el liofilizado utilizado no tiene propiedades premunizantes ni valor antigénico.

SUMARIO

El resultado de estas experiencias parece demostrar que la liofilización anula las propiedades biológicas de los piroplasmas bigéminum y babesiela argentina, en todas sus manifestaciones.

SOMMAIRE

Le résultat de ces expériences semble démontrer que le méthode lyophile annule les propriétés biologiques des Piroplasma bigeminum et Babesiella argentina en toutes leurs manifestations.

SUMMARY

The results of these facts seem to indicate that the process of lyophilization interferes with the biologic properties of *P. bigeminum* and *B. argentina*, in all their manifestations.

BIBLIOGRAFÍA

- MUDD STUART (1942).— Blood Substitutes and Blood Transfusión. Charles C. Thomas Publisher.
- STURA C. (1948).— Posibilidad de emplear sangre liofilizada en la premunición de bovinos. "Gaceta Veterinaria", marzo-abril, N° 52, año X.
- TALICE R. V. (1947).— Enfermedades parasitarias y transfusión de sangre (sangre y derivados). Curso de Hemoterapia. Pág. 135.
- YANNICELLI S. E. (1947).— Conservación de la sangre. Curso de Hemoterapia. Pág. 91.

Agradecemos los consejos técnicos del Dr. D. W. Invernizzi, jefe de la Central de Sangre y Plasma y la colaboración prestada por el Sr. Emilio Gouce del mismo Servicio.