

tos se realizó, en los sedimentos obtenidos, mediante microscopía óptica e inmunofluorescencia directa.. En el agua de tres de los grupos de población estudiados, se detectaron, respectivamente, ooquistes de *Cryptosporidium spp*, quistes de *G. lamblia* y quistes de *E. histolytica*. Se destaca la importancia de investigar en forma rutinaria en el agua de bebida, la presencia de parásitos de importancia clínica cuyos quistes son resistentes a las concentraciones de cloro utilizadas habitualmente para potabilizar el agua.

#### EC26. Hallazgos parasitológicos en coprocultivos de Rutina. S BONTTI.

Laboratorio Hospital «Dr. Domingo Sicoli», Belgrano 412, (5533) Villa Tulumaya, Departamento de Lavalle, Provincia de Mendoza.

El objeto de este trabajo fue evaluar con que frecuencia se encuentran parásitos en pacientes con trastornos gastrointestinales a los que se les solicita un coprocultivo para búsqueda de enteropatógenos o un examen en fresco de materia fecal para visualizar leucocitos polimorfonucleares. Se analizaron 563 coprocultivos y exámenes en fresco remitidos al laboratorio del Hospital «Dr. Domingo Sicoli» entre setiembre de 1994 y junio de 1996. A todas las muestras se les hicieron tres montajes húmedos entre porta y cubreobjetos y se observaron sin coloración, con solución de Lugol y con Azul de Metileno (100X y 400X). Los cultivos se hicieron en medios selectivos diferenciales para los enteropatógenos mas comunes. No se realizó búsqueda de *Campylobacter sp.*, *Yersinia sp.*, *Cryptosporidium sp.* ni de Enterovirus. En 82 oportunidades se hallaron parásitos, lo que representa un 14.6 % del total de muestras observadas. De estas muestras, 11 presentaban un enteropatógeno por lo menos: *Salmonella sp.* (3), *Shigella sp.* (7) y EPEC (1). Los parásitos hallados fueron: *Giardia lamblia* (55.4 %), *Blastocystis hominis* (23.4%), *Entamoeba coli* (18.5 %), *Chilomastix mesnili* (12.3 %), *Endolimax nana* (11.1 %), *Trichomonas hominis* (3.7 %), *Hymenolepis nana* (1.23%) y *Iodamoeba bustchli* (1.23 %). Se hace notar la importancia del diagnóstico de las infecciones parasitarias intestinales y la inclusión de los agentes parasitarios como causa de trastornos gastrointestinales especialmente en la niñez.

#### Inmunomodulación: IM

**IM1. Influencia del sexo en la evolución de la lesión en ratones BALB/c infectados con *Leishmania mexicana*.** F AGUILAR-TORRENTERA<sup>1,2</sup>, Y CARLIER<sup>1</sup>.

Lab de Parasitología, Universidad de Bruselas, Bélgica<sup>1</sup>, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México (Becario de COFAA)<sup>2</sup>.

Las leishmaniosis comprenden un gran espectro de síndromes clínicos, basado en múltiples factores tanto del parásito, como del huésped e inclusive del vector.

Tales como la especie, cepa, dosis y sitio de inoculación del parásito y del huésped el fondo genético y la respuesta inmunitaria que éste desarrolle para controlar la parasitosis. Además, desde hace tiempo se ha observado que la edad y el sexo pueden modificar el curso de la infección. Sin embargo, ha sido poco estudiada la influencia de éstos factores en la evolución de esta enfermedad. De manera general ha sido aceptado que, en muchas enfermedades parasitarias, los machos son mas susceptibles que las hembras. No obstante, que en algunas infecciones bacterianas y virales en roedores, las hembras presentan una respuesta inmunitaria celular menor y los niveles de inmunoglobulinas elevado con respecto a los machos. En este trabajo analizamos la influencia del sexo en la evolución de la lesión en ratones susceptibles a *Leishmania*. Para este fin, fueron inoculados intra-plantarmente 30 ratones de la cepa BALB/c (15 hembras y 15 machos), con 10<sup>7</sup> promastigotes de *L. mexicana* y semanalmente durante 20 semanas se midió el tamaño de la lesión. Los resultados mostraron que las hembras son mas susceptibles a la infección, debido a que a partir de la segunda semana después de la inoculación con el parásito mostraron un mayor tamaño de la lesión y a las 16 semanas el 56% mostraban lesiones metastásicas a diferencia de los machos que aún no presentaban esta difusión de la enfermedad. El número de parásitos presentes en la lesión fue contado en algunos animales y las hembras también mostraron un número mayor, estadísticamente significativo con respecto a los machos. Así este estudio enfatiza la influencia del sexo en el modelo BALB/c - *L. mexicana* y ser considerado en los mecanismos regulatorios de la respuesta inmunitaria y en su intrincada red de interacciones moleculares que pueden modular una respuesta.

**IM2. El fenómeno de supresión que ocurre durante la infección experimental con *Trypanosoma cruzi* es posterior a una etapa de activación.** E ZUÑIGA, C MOTRAN, C MONTES, F LOPEZ DIAZ, J L BOCCO, E VOTTERO-CIMA, A GRUPPI.

Dpto Bioq Clínica. Fac Cs Químicas. UNC. Ag Postal 4 CC 61 5000 Córdoba.

La fase aguda de la infección experimental con *T. cruzi* está caracterizada por dos fenómenos inmunológicos aparentemente contrapuestos: la activación policlonal y la inmunosupresión. El objetivo del presente trabajo fue analizar una posible relación entre estos fenómenos que permita explicar su coexistencia en la misma etapa de la infección. Para ello en células mononucleares de bazo (CMB) de ratones BALB/c infectados con dosis de 500 a 100000 tripomastigotes (tp) sanguíneos (Tulahuén) por animal, obtenidas en el día 8 y 11 post infección (pi) se analizaron: a) Morfología al microscopio óptico, b) Proliferación espontánea, c) cinética de la respuesta linfoproliferativa a ConA o LPS, d) secreción de IgM a los sobrenadantes de cultivo y e) fragmentación de DNA como índice de apoptosis celular. Como controles se utilizaron CMB de ratones nor-

males o inyectados con adyuvante de Freund completo. Pudimos observar que los animales infectados con mayor número de tp tanto en el día 8 y 11 pi tienen una respuesta linfoproliferativa basal y frente a mitógenos muy disminuida desde las 24 hs de cultivo, que se correlaciona con la presencia de células agregadas con característica de inmadurez y presencia de fragmentación de DNA. En cambio en el día 8 pi la proliferación basal de CMB de animales infectados con bajas dosis de tp está aumentada respecto de los controles o de animales infectados con mayor número de tp y presentan una respuesta a los mitógenos normal pero con una cinética acelerada. Esto llevo a detectar supresión en los tiempos habitualmente estipulados para medir proliferación frente a estos mitógenos. Los niveles de IgM en los sobrenadantes de cultivo se correlacionan con la respuesta linfoproliferativa. Estos resultados sugieren que bajas parasitemias inducen cierto grado de activación en los linfocitos que le permiten proliferar espontáneamente y responder antes frente a un mitógeno, mientras que en los animales con mayor número de parásitos las células se sobreactivan in vivo perdiendo la capacidad de proliferar probablemente debido a una muerte celular programada inducida por activación.

**IM3. La inmunización con *T. rangeli* modula el perfil de citoquinas en la infección experimental por *T. cruzi*.** L CERVETTA, E MORETTI, B BASSO.

Universidad Nac. de Cba, Servicio Nac. de Chagas y CONICOR. Rondeau 41 (5000) Córdoba.

En nuestro laboratorio se desarrolló un modelo experimental murino en el cual, inmunizando con *T. rangeli*, se obtiene respuesta inmune protectora frente a la infección por *T. cruzi* asociada, fundamentalmente, a la producción de isotipos IgG1 e IgG2a. En el presente trabajo se estudiaron los niveles séricos de citoquinas derivadas de linfocitos TH1 y TH2 en un grupo de ratones BALB/c infectados con *T. cruzi* y en otro inmunizado con *T. rangeli* previo a la infección. Específicamente se dosaron, mediante enzimoimmunoanálisis, los niveles de Interferón gamma (IFN), Interleuquina 2 (IL2), Factor de necrosis tumoral alfa (TNF), IL4, IL6 e IL10 durante el periodo agudo de la infección. Los resultados mostraron un incremento significativo de IFN, TNF, IL-6 e IL10 en los ratones infectados entre los días 9 y 21 post infección, respecto a los controles no infectados ( $p < 0,05$  a  $< 0,001$ ). En los ratones inmunizados se observó lo siguiente: IFN e IL6 mostraron niveles intermedios entre los controles y los infectados ( $p < 0,05$  a  $< 0,01$ ) aunque IFN presentó concentraciones elevadas en relación a la carga parasitaria; TNF e IL10 se mantuvieron en concentraciones séricas similares a los controles y, por último, IL2 e IL4 no mostraron cambios respecto a los controles en ambos grupos experimentales. Se observó una estrecha correlación entre la elevación de los niveles de citoquinas y el aumento de la parasitemia. En conclusión, la inmunización con *T. rangeli* parece inducir un balance de citoquinas favo-

rabable al huésped, reduciendo los niveles de citoquinas proinflamatorias, como TNF, así como de IL10, asociada a susceptibilidad a la infección. En cambio, mantiene niveles aparentemente protectores de IFN. Este balance se correlaciona con un elevado clearance de parásitos y una mejor resolución de la infección. En estos estudios se observó que el perfil sérico de citoquinas correspondió a ambos fenotipos celulares TH1 y TH2 sin predominio de uno u otro, como ocurre en otras parasitosis.

**IM4. Isotipos de anticuerpos anti-sulfocerebrosidos en ratas infectadas con *T. cruzi*. Efecto de la infección materna durante la preñez.** S FELDMAN, H DAVILA, G DIDOLI, A MARCIPAR, S REVELLI, O BOTTASSO.

\*Cátedra de Química Biológica e Instituto de Inmunología de la Fac. Cs. Médicas, UNR, Rosario; INTEBIO, UNL, Santa Fe.

En trabajos previos demostramos que la prevalencia de miocarditis crónica en ratas infectadas con *T. cruzi* era menor cuando las crías provenían de madres infectadas durante la preñez. También se comprobó que la infección con *T. cruzi* coexiste con altos niveles de auto-anticuerpos IgG anti-sulfocerebrosidos (a-sulf), siendo de menor jerarquía en las ratas nacidas de madres infectadas. Con el objeto de investigar si las diferencias en los niveles de a-sulf responden a algún isotipo en particular, se midieron los niveles de IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG2c a-sulf en 4 grupos de crías (n=5 cada uno); inoculadas con *T. cruzi* que provenían de madres con (il) o sin (iCo) infección homóloga durante la preñez; crías nacidas de los mismos grupos de madres no infectadas (nl y nCo). Los resultados expresados como % D.O. respecto de la media de los controles, (mediana-rango) fueron: Para IgG1: grupo iCo= 89.5(68.2-118.2), grupo il= 64.6(90.9-40.9); para IgG2a: en iCo= 241.7(166.7-283.3) y en il= 116.7(100-166.7); para IgG2b: en iCo= 341.2(311.8-400) y en il= 264.7(182.4-270.6) (comparación  $p < 0.01$ ); para IgG2c en iCo= 100(80-170) y en il= 70(30-90). Ambos grupos de crías infectadas tuvieron niveles de a-sulf IgG2b que se ubicaron significativamente por encima de los animales controles. No hubo diferencias significativas para ninguno de los anticuerpos medidos al analizar los grupos controles (nl vs nCo). El isotipo predominante de los a-sulf es la IgG2b en este modelo experimental; ante la infección materna, las crías infectadas preservan un menor aumento.

**IM5. Caracterización de anticuerpos anti-sulfocerebrosidos en sueros de ratas chagásicas y controles.** S FELDMAN\*, S REVELLI\*, A MARCIPAR\*\*.

\* Cátedra de Química Biológica e Instituto de Inmunología de la Fac. Cs. Médicas, U.N.R  
\*\*INTEBIO, U.N.L., Santa Fe.

En trabajos previos mostramos que ante la infección con *T. cruzi* a ratas «I» los niveles de anticuerpos IgG

anti.sulfocerebrosidos (a-sulf) aumentan. A los fines de caracterizar a estos a-sulf, se obtuvieron fracciones enriquecidas de los mismos a partir del suero de 10 ratas infectadas con *T. cruzi*, 30 días post-infección (I) y del suero de 10 ratas controles (Co): esto se realizó mediante estrategias de purificación de IgG total, diálisis, liofilización y posterior purificación a partir de columna de dextran sulfato, buffer NaCl 0.15M y 1.5M, sucesivamente. Se obtuvieron así dos fracciones de elución para cada uno de los sueros en estudio, una a baja concentración NaCl (f1) y otra a alta concentración de la sal (f2), que coincidieron con los picos de actividad a-sulf. Los valores de concentración de proteínas, así como los niveles de IgG total y actividad a-sulf fueron significativamente mayores para la fracción f2 provenientes de ratas que para la misma fracción obtenida a partir de los sueros Co ( $p < 0.01$ ). Ensayos de caracterización isotópica mostraron un marcado predominio de a.sulf. IgG2b en la fracción f2 de los sueros de ratas infectadas. Se concluye que en ratas infectadas con *T. cruzi*, se observa un incremento de a-sulf, que eluyen de una columna de dextran sulfato a alta concentración de NaCl con un marcado predominio del isotipo IgG2b.

**IM6. Disminución de las poblaciones T en el timo y las Placas de Peyer (PP) en la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*.** MI ANTUNEZ, RL CARDONI, RE FEINSTEIN, KO GRÖNVIK.

*Instituto Nacional de Parasitología «Dr. M. Fátala Chabén», Av. P. Colón 568, 1063 Bs As; Departamentos de Patología y de Investigación en Vacunas, The National Veterinary Institute, Uppsala.*

Las PP son estructuras especializadas asociadas al intestino con linfocitos de origen tímico. Estudiamos las poblaciones celulares en PP y timo de ratones BALB/c infectados con *T. cruzi*, cepa Tulahuén. En la etapa aguda ambos órganos disminuyeron drásticamente su celularidad, principalmente por la disminución (de aprox. 15 veces) de las células T inmaduras CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> de la corteza tímica, y de las células B y T en las PP. A los 20 días post-infección (pi), pico de parasitemia, se encontraron muy pocas PP (N, normal:  $9.0 \pm 0.3$ ; I, infectado:  $3 \pm 1$ ) que mostraron principalmente una depleción de las áreas T-dependientes. Los estudios por citometría de flujo indicaron una disminución del número de células que expresaban CD4 (N:  $16 \pm 6$ , I:  $2.5 \pm 0.5$ ,  $\times 10^5$ ) y el receptor T ab (N:  $38 \pm 13$ , I:  $6 \pm 4$ ,  $\times 10^5$ ). A las 14 sem pi, se normalizaron la celularidad y los niveles de las subpoblaciones T. Considerando el papel de la PP en el control de las infecciones intestinales, de alta prevalencia en el área endémica, podrían considerarse estos cambios para determinar la necesidad de implementar medidas preventivas. Financiado por SAREC (Suecia) y CONICET (Argentina).

**IM7. Sistema HLA en individuos chagásicos asintomáticos del noroeste argentino.** N GUTIERREZ<sup>1</sup>, J GALINDO<sup>1</sup>, FALFARO<sup>2</sup>, J E DIPIERRI<sup>2</sup>, A GUTIERREZ<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Inmunología y Parasitología (Tucumán); <sup>2</sup>Instituto de Biología de la Altura-Universidad de Jujuy. Mendoza 975 (4000) Tucumán.

El sistema HLA es una herramienta en la investigación de variabilidad y estructura poblacional, biología molecular, inmunogenética y susceptibilidad a las enfermedades. Se presentan los resultados preliminares tratando de analizar la relación entre los antígenos HLA y enfermedad de Chagas en un área del país endémica para esta patología. La muestra estuvo constituida por individuos sin sintomatología chagásica ( $n=280$ ) provenientes de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy; se tipificaron serológicamente antígenos Clase I (locus A y B) y Clase II (locus D r) y se determinaron las frecuencias genéticas para estos 3 loci. En todos se realizó serología para Chagas, Hemoaglutinación Indirecta (HAI) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), se consideraron infectados a aquellos que presentaban ambas pruebas concordantes con HAI igual o mayor a 16 e IFI positivo. Las diferencias genéticas entre los individuos seropositivos y seronegativos se establecieron mediante la prueba  $\chi^2$ . No se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los alelos analizados entre los individuos con serología reactivas para Chagas y los controles no reactivos. Los resultados de este trabajo difieren de estudios previos, también discordantes entre sí, orientados a identificar diferencias genéticas entre individuos con serología para Chagas positiva o negativa. La incongruencia observada entre estos estudios, además de reflejar la probable ausencia de componentes genéticos en la susceptibilidad a la enfermedad de Chagas puede atribuirse, entre otros factores, a la diferencia en la composición étnica de las poblaciones analizadas resultantes de importantes procesos de miscegenación pasados y actuales.

**IM8. Detección de antígenos específicos de esporos de *Microsporidia*.** HD LUJÁN<sup>1</sup>, MC TOUZ<sup>1</sup>, JT CONRAD<sup>2</sup>, CG CLARK<sup>2</sup>, F DELBAC<sup>3</sup>, C VIVARES<sup>3</sup>, TE NASH<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba, CC 35, Suc. 16, CP 5016. Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA. <sup>3</sup>Université Blaise Pascal, 63177 Aubiere Cedex, France.

Los parásitos del Phylum *Microsporidia* son protozoos intracelulares que infectan una gran variedad de organismos vertebrados e invertebrados pero que en la actualidad están emergiendo como una importante causa de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunocomprometidos. Hasta la fecha no existen métodos diagnósticos simples y específicos, ni agentes terapéuticos efectivos contra estos parásitos. El estado infectivo de *Microsporidia* es el esporo. Este posee un extraordinario mecanismo de inyección de su contenido dentro de la célula huésped (el tubo polar) y una pared glicoproteica compleja que le confiere la resistencia necesaria para sobrevivir en ambientes muy hosti-