



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana
ISSN: 0325-2957
actabioq@fbpba.org.ar
Federación Bioquímica de la Provincia de
Buenos Aires
Argentina

Ponce de León, Patricia; Foresto, Patricia; Valverde, Juana
Identificación de epitopes Tipo Grupo Sanguíneo ABO en larvas de *Ascaris lumbricoides* mantenidas
in vitro
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 43, núm. 1, marzo, 2009, pp. 21-26
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53516745004>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Identificación de epitopes Tipo Grupo Sanguíneo ABO en larvas de *Ascaris lumbricoides* mantenidas *in vitro*

Identification of ABO Blood Group like epitopes in vitro maintained Ascaris lumbricoides larvae

► Patricia Ponce de León^{1*}, Patricia Foresto^{2**}, Juana Valverde^{2**}

1. Bioquímica

2. Doctora en Ciencias Bioquímicas

* Laboratorio de Parasitología. Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR

** Laboratorio de Inmunohematología, Hemoreología e Inmunogenética. Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR

Resumen

En investigaciones previas se identificaron los mismos epitopes del Sistema ABO en extractos de *A. lumbricoides* y en sus respectivos hospederos. Los objetivos de este trabajo fueron estudiar la absorción de determinantes antígenicos ABO por cultivo *in vitro* de estadios larvales de este helminto e investigar la presencia de sustancias Tipo Grupo Sanguíneo ABO en los productos de secreción/excreción de las larvas. Se trabajó con larvas obtenidas de la eclosión de huevos de *A. lumbricoides* y recolectadas por el método de Baermann en cinco tubos con medio RPMI 1640. En tres de los tubos se adicionaron eritrocitos (A, B y O). Los dos tubos restantes se usaron como control negativo de absorción y para investigar los productos de excreción/secreción de las larvas. Se aplicaron técnicas de Inhibición de la Aglutinación Semicuantitativa usando anticuerpos monoclonales. Los resultados mostraron que las larvas absorben epitopes A, B y H de los eritrocitos agregados al medio de cultivo. Se identificaron sustancias Tipo A y B en los productos de excreción/secreción de las larvas. La experiencia puede contribuir a la comprensión de los mecanismos de evasión de la respuesta inmune del hospedero utilizados por *A. lumbricoides*.

Palabras clave: epitopes ABO * cultivo * larvas * *Ascaris lumbricoides*

Summary

Previous experiences have demonstrated the same ABO System epitopes in *A. lumbricoides* extracts and in their hosts. The aims of this work were to study ABO antigenic determiner absorption by in vitro culture of the helminth's larvae and to investigate ABO-Blood-Group-like substances in larvae's excretion/ secretion products. Larvae were obtained by hatching of *A. lumbricoides* eggs. The larvae were collected in 5 tubes with RPMI 1640 medium by the Baermann method. A, B and O erythrocytes were added in 3 of the tubes. The two remaining tubes were used as absorption Negative Control and to investigate larvae's excretion/secretion products.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

The Semiquantitative Inhibition Agglutination Test was applied by using monoclonal antibodies. The results showed that the larvae may adsorb A, B and H epitopes from the erythrocytes that were added to the culture medium. A and B-Blood-Group-like substances were identified in the excretion/secretion products. The experience can contribute to understand the host's escape mechanism used by A. lumbricoides.

Keywords: ABO epitopes * culture * larvae * *Ascaris lumbricoides*

Introducción

Durante las últimas décadas se ha comunicado que los antígenos de Grupo Sanguíneo no sólo pueden actuar como receptores de parásitos, sino que también pueden estar presentes sobre la superficie de muchas especies parásitas (1)(2). Se supone que este hecho se debe a que el parásito recubre su membrana o cutícula con antígenos del hospedero a los fines de evadir su respuesta inmune, en un mecanismo de mimetismo molecular (3)(4). Las primeras experiencias para explicar este fenómeno en parásitos la realizó Clegg con *Schistosoma mansoni* (5).

En investigaciones previas se identificaron antígenos del Sistema ABO en extractos de *Ascaris lumbricoides* aplicando técnicas de Inhibición de la Aglutinación y se observó que los parásitos podían expresar las mismas determinantes antigénicas ABO que sus respectivos hospederos (6-9). Los objetivos del trabajo fueron: investigar la presencia de sustancias Tipo Grupo Sanguíneo ABO en los productos de secreción/excreción de las larvas de *A. lumbricoides*, y estudiar la absorción de determinantes antigénicas ABO por cultivo *in vitro* de estadios larvales del parásito, a los fines de determinar el mecanismo por el cual *A. lumbricoides* adquiere estos epitopes.

Materiales y Métodos

OBTENCIÓN DE ESTADIOS LARVALES DE A. LUMBRICOIDES

Se trabajó con estadios larvarios obtenidos a partir de heces con huevos de este helminto. Los huevos se concentraron por el método de flotación de salmuera (10), se lavaron 3 veces en agua destilada y se colocaron en SO_4H_2 0,1 N durante 12 a 24 días a 37 °C hasta la observación microscópica de huevos larvados (11). Se consideró que los estados larvales eran una mezcla de larvas de primer y segundo estadio (L1/ L2) debido a comunicaciones sobre el tiempo requerido para el desarrollo de la larva durante la embrionación *in vitro* (12). Se tomaron alícuotas del sedimento fecal con los huevos larvados y se neutralizaron con igual volumen de *buffer* fosfato 0,5 M pH 7. Se lavaron 3 veces en agua destilada, y se procedió a la remoción de la cubierta de los huevos

con hipoclorito de sodio 1% a 37 °C en atmósfera del 5% de CO_2 durante 30 min. A continuación se lavaron 3 veces en agua destilada estéril y 3 veces en el mismo *buffer* suplementado con antibióticos (vancomicina 300 µg/mL; colistina 750 µg/mL; nistatina 1250 U/mL; trimetoprima 500 µg/mL). Los huevos larvados se colocaron en el medio de eclosión a 37 °C agitando constantemente durante 1 a 2 horas hasta la liberación completa de las larvas.

MEDIO DE ECLOSIÓN

Por cada 0,5 mL de suspensión de huevos, se adicionó: 1 mL de bisulfito de sodio 0,1 M y 1 mL de cloruro de sodio 0,25 M (pre-gaseado conteniendo 0,0025% de Tween 80 y 0,1 M de bicarbonato de sodio) (11).

Las larvas (L1/ L2) fueron recolectadas por el método de Baermann-Moraes (13) en medio RPMI 1640 (Gibco) al cabo de 2 horas a la misma temperatura. Este medio de cultivo es una mezcla de sales enriquecida con aminoácidos, vitaminas y otros componentes esenciales para el crecimiento celular. Completada la recolección, las larvas fueron concentradas por centrifugación y se procedió al recuento que determinó una cantidad de 1100 a 1200 larvas/mL.

CULTIVO DE ESTADIOS LARVALES DE A. LUMBRICOIDES

Se tomaron alícuotas de 1 mL del concentrado de larvas y se sembraron en 4 tubos que contenían 10 mL de medio RPMI 1640 suplementado (tubos 1, 2, 3 y 4) y en otro tubo (tubo 5) con 3 mL de este mismo medio. El medio RPMI 1640 estuvo suplementado con 1% de la mezcla de antibióticos descrita y 1% de complejo (concentraciones finales del complejo en g/L: vitamina B12 0,010; L-glutamina 10,0; clorhidrato de guanina 0,03; adenina 1,0; ácido p-aminobenzoico 0,013; L-cistina 1,10; NAD-coenzima 1- 0,25; cocarboxilasa 0,10; nitrato férrico 0,02; clorhidrato de tiamina 0,003; clorhidrato de cisteína 25,9; Glucosa 100,0).

En los tubos 1, 2 y 3 se agregaron 100 µL de sedimento de eritrocitos tipificados A, B y O respectivamente. Los tubos 4 y 5 fueron usados como controles negativos y para investigar productos de excreción/secreción Tipo antígenos ABO. Todos los tubos se cultivaron 10 días a 37 °C en una atmósfera de $\text{N}_2\text{-CO}_2\text{-O}_2$ (90-5-5).

ERITROCITOS TIPIFICADOS

Se seleccionaron eritrocitos frescos A, B y O por aglutinación directa enfrentándolos a anticuerpos monoclonales (Wiener: anti-A, Cod 1443152, Lote 603729; anti-B, Cod 143154, Lote 511512). Luego se los lavó tres veces en solución salina y se preparó una suspensión al 1% (100 µL de eritrocitos en 10 mL de solución fisiológica), para que tuviera la misma concentración que la agregada al medio de cultivo. Se titularon los eritrocitos con anticuerpos monoclonales suministrados por "Monoclonal Antibodies against Blood Group Antigens" (Workshop, París, 2001) a los fines de tipificarlos y de esta manera determinar la expresión de epítopes ABO. Para la titulación se realizaron diluciones geométricas seriadas al medio del anticuerpo (volumen final 25 µL) y se adicionó igual volumen de la suspensión de eritrocitos a todos los tubos; se determinó el título como la inversa de la última dilución que presentó aglutinación (14). Los resultados de la titulación de los eritrocitos agregados al medio de cultivo y las características de los anticuerpos monoclonales utilizados para la tipificación, se muestran en la Tabla I.

INVESTIGACIÓN DE ANTÍGENOS ABO EN LAS LARVAS

Una vez finalizado el tiempo de cultivo, se procedió a la separación por migración de las larvas (L1/ L2) de los tubos 1, 2 y 3, utilizando el método de Baermann-Moraes (13) y recolectándolas en *buffer* fosfato

0,5 M pH 7. Las larvas recolectadas fueron lavadas 3 veces en solución fisiológica y concentradas por centrifugación (2500-3000 rpm) hasta obtener una concentración similar de larvas en todos los sedimentos. Se hizo el recuento y se determinó que la cantidad era de 200-300 larvas/mL en los 3 tubos.

Los tubos 4 y 5 fueron centrifugados 10 min (2.500-3.000 rpm) y se separó el medio RPMI 1640 sobrenadante que se almacenó a -20 °C hasta el momento de uso. Los sedimentos con las larvas (L1/ L2) fueron lavados 3 veces en agua destilada y concentrados por centrifugación (2.500-3.000 rpm). Se hizo el recuento de larvas y se determinó que en el tubo 4 había 200-300 larvas/mL y en el tubo 5, la cantidad era de 600 larvas/mL.

INHIBICIÓN DE LA AGLUTINACIÓN SEMICUANTITATIVA (14)

Se prepararon 2 series de diluciones geométricas seriadas de cada anticuerpo monoclonal que había reconocido epítopes expresados por los eritrocitos adicionados a los medios de cultivo (Workshop, París, 2001) (volumen final 25 µL).

En la primera serie se agregaron 25 µL de solución fisiológica a todos los tubos y en la segunda, igual volumen del concentrado de larvas. Se dejó en contacto 30 min a temperatura ambiente. Se reveló agregando 25 µL de una suspensión al 1-3% de eritrocitos frescos de isogrupo, lavados 3 veces en solución fisiológica. Pre-

Tabla I. Titulación de los eritrocitos agregados al medio de cultivo y características de los anticuerpos monoclonales utilizados.

Anticuerpo monoclonal (características)			Eritrocitos O Título	Eritrocitos A Título	Eritrocitos B Título
Anti-H 2.68	(Ig Mk; 15,5 µg/ mL)		4	//	//
Anti-H 2.72	(Ig M; 41,75 µg/ mL)		512	//	//
Anti-A 2.22	(Ig M; 89,6 µg/ mL)		//	256	//
Anti-A 2.23	(Ig M; ≤ 0,7 µg/ mL)		//	16	//
Anti-A1 2.24	(Ig M; 0,617 µg/ mL)		//	2	//
Anti-A4 2.28	(Ig M; ≤ 0,5 µg/ mL)		//	Sin aglutinación	//
Anti-A 2.1	(Ig M; ≤ 0,5 µg/ mL)		//	Sin aglutinación	//
Anti-A 2.2	(Ig M; 37,9 µg/ mL)		//	Sin aglutinación	//
Anti-A 2.4	(Ig M; 14,2 µg/ mL)		//	Sin aglutinación	//
Anti-A 2.5	(Ig M; 24,7 µg/ mL)		//	Sin aglutinación	//
Anti-A 2.6	(Ig M; 14,2 µg/ mL)		//	Sin aglutinación	//
Anti-A 2.7	(Ig M; ≤ 0,7 µg/ mL)		//	Sin aglutinación	//
Anti-B 2.45	(Ig M; 12 µg/ mL)		//	//	16
Anti-B 2.54	(Ig G3; ≤ 0,5 µg/ mL)		//	//	Sin aglutinación
Anti-B 2.55	(Ig M; 71,8 µg/ mL)		//	//	Sin aglutinación
Anti-B 2.57	(Ig M; 45,3 µg/ mL)		//	//	16
Anti-B 2.58	(Ig M; 86,3 µg/ mL)		//	//	Sin aglutinación
Anti-B 2.59	(Ig M; 36 µg/ mL)		//	//	8
Anti-B 2.62	(h Ig M; ≤ 0,5 µg/ mL)		//	//	32
Anti-B 2.63	(Ig M; 13 µg/ mL)		//	//	8

// No realizado

viamente se probó que los eritrocitos del sistema revelador expresaran los epitopes ABO hacia los cuales iban dirigidos los anticuerpos monoclonales utilizados para la tipificación de los eritrocitos agregados a los medios de cultivo.

Se determinó el título del anticuerpo monoclonal en las dos series y se consideró significativa una diferencia de título igual o mayor a dos diluciones entre ambas.

A los fines de investigar si las larvas presentaban únicamente epitopes de la misma especificidad que los eritrocitos agregados al medio de cultivo, se realizó la Prueba de Inhibición de la Aglutinación enfrentando también las larvas del tubo 1 a anti-H 2.72 y a anti-B monoclonal comercial (Wiener, Cod 143154, Lote 511512); las del tubo 2 a anti-H 2.72 y anti-A monoclonal comercial (Wiener, Cod 1443152, Lote 603729) y las del tubo 3 a los dos anticuerpos monoclonales comerciales. Para la realización de esta prueba, de manera similar a la anteriormente descrita, se titularon los anticuerpos con y sin el agregado del concentrado de larvas, usando como sistema revelador eritrocitos de isogrupo. Se consideró significativa una diferencia de título igual o mayor a dos diluciones.

Se incluyó un testigo negativo de aglutinación en cada prueba, para lo que se utilizó el concentrado de larvas del tubo 4 que presentaba una cantidad similar de larvas/mL a las de los tubos 1, 2 y 3. El testigo negativo se procesó de la misma manera que los otros concentrados de larvas.

INVESTIGACIÓN DE PRODUCTOS DE EXCRECIÓN/SECRECIÓN (ES) TIPO GRUPO SANGUÍNEO ABO DE LAS LARVAS

Los medios RPMI 1640 separados de los tubos 4 y 5, se concentraron por centrifugación a 2.500-3.000 rpm durante 15 min. En los sedimentos se realizó la prueba de Inhibición de la Aglutinación Semicuantitativa (14), utilizando anti-A y anti-B monoclonales comerciales (Wiener, anti-A, Cod 1443152, Lote 603729; anti-B, Cod 143154, Lote 511512) y anti-H 2.72. Se prepararon dos series de diluciones de los anticuerpos (volumen final 25 µL). A la primera serie se le agregaron 25 µL de solución fisiológica y a la segunda serie igual volumen de concentrado del medio RPMI 1640. El sistema revelador fue eritrocitos de isogrupo. Se determinó el título del anticuerpo monoclonal en las dos series y se consideró significativa una diferencia de título igual o mayor a dos diluciones entre ambas.

Resultados

IDENTIFICACIÓN DE EPITOPES ABO EN LAS LARVAS

Los concentrados larvales de los tubos 1, 2 y 3 se enfrentaron a los anticuerpos monoclonales que habían

reaccionado previamente con los epitopes expresados en los eritrocitos agregados a los medios de cultivo. El concentrado de larvas del tubo 4 (de similar concentración en larvas/mL) se usó como control negativo de las pruebas de Inhibición de la Aglutinación Semicuantitativa.

Las larvas del tubo 1 (en contacto con eritrocitos A), fueron enfrentadas a 3 anticuerpos monoclonales anti-A. Los resultados mostraron que el concentrado larvario inhibía de manera significativa al anticuerpo anti-A 2.22, demostrando la presencia de epitopes dirigidos contra ese anticuerpo en las larvas. A los fines de investigar si únicamente absorbían epitopes A del medio de cultivo, se enfrentaron también al anticuerpo anti-H 2.72 y al anti-B monoclonal comercial. Los resultados mostraron ausencia de epitopes B y H en las larvas cultivadas con eritrocitos A.

Las larvas del tubo 2 (en contacto con eritrocitos B), fueron enfrentadas a 5 anticuerpos monoclonales anti-B. Las larvas inhibieron de manera significativa a dos de estos anticuerpos (anti-B 2.57; anti-B 2.63). También se investigó la absorción de epitopes A y H en este concentrado larvario, enfrentándolas a anti-H 2.72 y anti-A monoclonal comercial. Se demostró que las larvas cultivadas en contacto con eritrocitos B no presentaban epitopes A y H.

Las larvas del tubo 3 (en contacto con eritrocitos O) se enfrentaron a los 2 anti-H. Se observó inhibición del anticuerpo anti-H 2.72. Las larvas fueron enfrentadas también a los dos anticuerpos comerciales (anti-A y anti-B) y los resultados mostraron que no presentaban epitopes A y B.

Las experiencias demostraron que las larvas pueden absorber epitopes de los eritrocitos presentes en el medio de cultivo. La Tabla II presenta los resultados de las pruebas de Inhibición de la Aglutinación Semicuantitativa.

IDENTIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE EXCRECIÓN/SECRECIÓN TIPO ABO DE LAS LARVAS

La técnica aplicada mostró en el sedimento del tubo 5 (cantidad inicial de RPMI 1640= 3 mL), sustancias de ES Tipo A y B, tal como se evidenció por la diferencia significativa de título entre las dos series de diluciones del anticuerpo monoclonal. En el sedimento del tubo 4 (cantidad inicial de RPMI 1640=10 mL) estos productos no fueron evidenciados.

No se detectó sustancias Tipo H en ninguno de los dos sedimentos.

Los resultados se muestran en la Tabla III.

Conclusiones

El mimetismo molecular ha sido definido como la adquisición de moléculas del hospedero sobre la su-

Tabla II. Resultados de la Inhibición de la Aglutinación Semicuantitativa para identificación de epitopes ABO en las larvas

Anticuerpos monoclonales	Título en la primera serie	Título en la segunda serie larvas tubo 1 (con agregado de eritrocitos A)	Título en la segunda serie larvas tubo 2 (con agregado de eritrocitos B)	Título en la Segunda serie larvas tubo 3 (con agregado de eritrocitos O)	Larvas tubo 4 (control negativo)
Anti-H 2.68	8	//	//	8	8
Anti-H 2.72	64	64	64	16	32
Anti-A 2.22	128	32	//	//	128
Anti-A 2.23	16	16	//	//	16
Anti-A1 2.24	4	4	//	//	4
Anti-A comercial	32	//	32	32	32
Anti- B 2.45	8	//	8	//	8
Anti- B 2.57	16	//	4	//	16
Anti- B 2.59	16	//	16	//	16
Anti- B 2.62	16	//	8	//	16
Anti- B 2.63	8	//	2	//	8
Anti-B comercial	16	16	//	16	16

// No realizado

perficie parasitaria o bien la síntesis de moléculas similares, a los fines de evadir la respuesta inmunitaria.

Se han comunicado experiencias que aportan clara evidencia de que *S. mansoni* presenta antígenos A, B, y H sobre su superficie, cuando es cultivado con sangre humana. Se demostró que la presencia de una especificidad particular sobre la superficie de los parásitos era dependiente de la especificidad presente en la sangre utilizada para los cultivos (15). En esta experiencia se demostró el mismo comportamiento, ya que los estados larvarios de *A. lumbricoides* expresaron únicamente al antígeno A, B y H cuando fueron cultivados con el agregado de eritrocitos A, B y O respectivamente.

Las pruebas de Inhibición de la Aglutinación realizadas mostraron que las larvas del tubo 1 (cultivadas con eritrocitos A), sólo expresaron epitopes A contra el anticuerpo 2-22 y las larvas del tubo 2 (cultivadas con eritrocitos B), expresaron epitopes B contra dos de los anti-B monoclonales estudiados (2.57, 2.63). Experiencias previas, ya habían demostrado heterogeneidad en la expresión de epitopes ABO en *A. lumbricoides* (9), pero hasta el momento se desconoce el motivo de este hecho que estaría relacionado con la absorción de determinados epitopes de los eritrocitos. Cabe señalar que en estas pruebas la absorción selectiva de determinados epitopes no pareció depender exclusiva-

mente de la cantidad de determinantes antigénicas presentes en los glóbulos rojos adicionados, ya que no en todos los casos las larvas expresaron los epitopes que estaban en mayor cantidad en los eritrocitos adicionados, tal como se pudo inferir por los resultados de la titulación de los mismos con los anticuerpos monoclonales utilizados.

En esta experiencia, la adquisición de antígeno H sobre la superficie parasitaria solamente ocurrió durante el cultivo de las larvas con sangre Grupo O, en coincidencia con las observaciones de Goldring *et al.* (15). Estos investigadores sugieren que los parásitos no absorben epitopes H de eritrocitos A, B y AB pues si bien la sustancia H está presente en estos, los eritrocitos (con excepción de eritrocitos A₁), la cantidad es menor que en los eritrocitos O, y posiblemente las determinantes A y B compitan fuertemente por los sitios de unión de la superficie del parásito (15). Si bien esta explicación de competición de las determinantes antigénicas por los sitios de unión a la membrana parasitaria es lógica y podría ser cierta, posiblemente exista también otro mecanismo de absorción selectiva, pues de lo contrario se hubiera encontrado en los concentrados larvarios siempre las determinantes antigénicas A y B expresadas en mayor cantidad en los eritrocitos adicionados.

Tabla III. Resultados de la Inhibición de la Aglutinación Semicuantitativa para identificación de productos de excreción/secreción Tipo ABO de las larvas

Anticuerpo monoclonal	Título en la primera serie	Título en la segunda serie Sedimento tubo 4	Título en la segunda serie Sedimento tubo 5
Anti- A	32	16	4
Anti- B	16	16	4
Anti- H	64	64	64

Los productos de ES Tipo ABO (A y B) fueron detectados únicamente en el tubo 5, que tenía una cantidad de medio de cultivo menor. Esto se podría deber a que las larvas de este tubo estaban más concentradas lo que permitió la detección de los productos de ES con la técnica de Inhibición de la Aglutinación utilizada.

Se ha comunicado el hallazgo de sustancias semejantes a los antígenos de Grupo Sanguíneo ABO en los productos de ES de larvas de *Toxocara canis*. Smith y *et al.* han informado que los productos de ES de larvas de segundo estadio mantenidas en cultivo, fueron capaces de neutralizar la reactividad de anti-A y anti-B policlonal humano contra sus respectivos eritrocitos (16).

También se ha demostrado la presencia de títulos elevados de isohemaglutininas anti A y anti B en toxocariasis (17), que podría deberse a los productos de ES de las larvas.

No se detectó productos de ES Tipo sustancia H en las condiciones de esta experiencia.

Aunque estos resultados fueron obtenidos bajo determinadas condiciones experimentales de cultivo *in vitro*, los hallazgos demuestran que la absorción es el mecanismo de adquisición de epitopes ABO en *A. lumbricoides*. Se sugiere que, *in vivo*, el parásito podría adquirirlos durante la migración larvaria por el torrente circulatorio.

Esta experiencia también demostró que dentro de los productos de excreción/secreción de los estadios larvarios de este nematodo hay sustancias Tipo antígenos ABO capaces de reaccionar con anticuerpos A y B.

Estos resultados pueden aportar información para la comprensión del complejo mecanismo de evasión de la respuesta inmune del hospedador utilizado por *A. lumbricoides*.

CORRESPONDENCIA

PATRICIA PONCE DE LEÓN
Laboratorio de Parasitología. Dpto de Microbiología
Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas
Suipacha 531
2000 ROSARIO
E-mail: tefu1958@hotmail.com

Referencias bibliográficas

1. Salmón C. Les groupes sanguins ou l'écriture des genes. París: Mason; 1997.
2. Garraty G. Asociación entre grupos sanguíneos y enfermedad. ¿Desempeñan un papel fisiológico los antígenos-anticuerpos de los grupos sanguíneos? Rev Argent Trans 1997; 23: 217-29.
3. Blaxter ML Page AP, Rudin W, Maizels RM. Nematode surface coats: Actively evading immunity. Parasitol Today 1992; 8 (7): 243-7.
4. Damian RT. Molecular mimicry antigen sharing by parasite and host and its consequences. Am Nat 1964, 98 (900): 129-49.
5. Clegg JA, smithers SR, Terry JR. Acquisition of human antigens by *Schistosoma mansoni* during cultivation *in vitro*. Nature (Lond) 1971; 232: 653-4.
6. Ponce de Leon P, Valverde J, Zdero M. Preliminary studies on antigenic mimicry of *Ascaris lumbricoides*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2000; 42 (5): 295-6.
7. Ponce de Leon P, Valverde J. ABO System: Molecular mimicry of *Ascaris lumbricoides*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2003; 45 (2): 107-8.
8. Ponce de Leon P, Foresto P, Valverde J. H Antigen presence in an *Ascaris lumbricoides* extract. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2005; 47 (3): 159-60.
9. Ponce de Leon P, Foresto P, Valverde J. *Ascaris lumbricoides*: heterogeneidad en la expresión de epitopes ABO. Invest Clin 2006; 47 (4): 385-93.
10. Beaver P, Jung R, Cupp EW. Parasitología Clínica. 2º Ed. Buenos Aires: Salvat; 1986.
11. Fairbairn D. The *in vitro* hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs. Canad J Zool 1961; 39: 153-62.
12. Geenen PL, Bresciani JB, Pedersen A, Eirksen H, Fagerholm PN. The Morphogenesis of *Ascaris suum* to the Infective Third-Stage Larvae within the egg. J Parasitol 1999; 85 (4): 616-22.
13. Shore García L, ASH L. Diagnóstico parasitológico. 2º Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1983.
14. Marcelli A, Fine JM, Homberg JC, Ribat I. Techniques in immunohematologie. París : Flammarion; 1981.
15. Goldring OL, Clegg JA, Smithers R, Terry RJ. Acquisition of human blood group by *Schistosoma mansoni*. Clin Exp Immunol, 1976, 26:181-7.
16. Smith HV, Kusel JR, Girdwood RW. The production of human A and B blood group like substances by *in vitro* maintained second stage *Toxocara canis* larvae: their presence on the outer larval surfaces and in their excretions/ secretions. Clin Exp Immunol 1983; 54 (3): 625-33.
17. Espinoza Y, Huapaya P, Suárez R, Chávez V, Sevilac, Dávila E, *et al.* Estandarización de la técnica de Elisa para el diagnóstico de toxocariasis humana. An Fac Med 2003; 64 (1): 7-12.

Aceptado para su publicación el 24 de noviembre de 2008