



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

ISSN: 0325-2957

ISSN: 1851-6114

actabioq@fbpba.org.ar

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires  
Argentina

Ponce de León, Patricia; Pretto, Lautaro; Racca, Liliana  
Desialización eritrocitaria con y sin exposición del antígeno T producida por *Trichinella spiralis*  
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 52, núm. 1, 2018, pp. 65-70  
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires  
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53568572009>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en [redalyc.org](http://redalyc.org)

[redalyc.org](http://redalyc.org)

Sistema de Información Científica Redalyc

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

# Desialización eritrocitaria con y sin exposición del antígeno T producida por *Trichinella spiralis*\*

*Erythrocyte desialylation with and without T antigen exposure produced by Trichinella spiralis*

*Desialylation eritrocitaria com e sem exposição antígeno T produzida por Trichinella spiralis*

► Patricia Ponce de León<sup>1</sup>, Lautaro Pretto<sup>2</sup>, Liliana Racca<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> Doctora en Ciencias Biomédicas.

<sup>2</sup> Pasante Área Parasitología.

<sup>3</sup> Magister en Estadística.

\* Área Parasitología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

## Resumen

El objetivo del trabajo fue estudiar la desialización de eritrocitos que desenmascaran el antígeno T y de los glóbulos que no lo exponen, por contacto con larvas recién nacidas (LRN) de *T. spiralis*. Se trabajó con 15 suspensiones eritrocitarias en medio enzimático, incubadas con LRN. Los GR control se incubaron con solución salina. Para analizar el efecto del parásito sobre la exposición del antígeno T, se aplicó el Método de Aglutinación anti-T con antígeno T y se estudió la agregación por los métodos de Polibrene y de Análisis Digital de Imágenes, determinando *CexpST*, *CCA* y Distribución de los agregados eritrocitarios (DAE). La media de los coeficientes en los eritrocitos que expusieron el antígeno T fueron *CexpST*=0,22±0,179 y coeficiente de células aisladas (*CCA*)=0,73±0,108 y en los que no 0,86±0,125 y 0,205±0,163 respectivamente. La DAE mostró que los GR que lo expusieron, presentaron marcada disminución de células aisladas y pronunciado aumento de grandes agregados en relación a los controles, mientras que los GR en los que no hubo exposición, la disminución de células aisladas con respecto a los controles fue menor y el aumento de agregados estuvo homogéneamente distribuido entre todas las categorías. La experiencia realizada concluye que los valores obtenidos de los coeficientes difieren significativamente en los GR que exponen el antígeno T y en los que no, por lo que estas técnicas podrían ser predictivas para detectar desenmascaramiento T.

**Palabras claves:** larvas recién nacidas \* *Trichinella spiralis* \* desialización \* antígeno T

## Abstract

The aim of this work was to study the desialylation of erythrocytes that expose the T antigen by contact with *T. spiralis* newborn larvae (NL) and of those that do not. Work was carried out with 15 red cell suspensions in enzymatic medium, which were incubated with NL. The respective Control RBC were incubated with saline solution. To analyze the effect of the parasite on the exposure

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

of the T antigen, the Anti T- antigen T Agglutination Method was applied and the aggregation was studied by Polybrene and Digital Image Analysis Methods determining CexpTS, ICC and Distribution of Erythrocyte Aggregates (DEA). The mean of coefficients in the erythrocytes that exposed the T antigen were CexpTS=  $0.22 \pm 0.179$  and ICC=  $0.73 \pm 0.108$  and of those that did not it was  $0.86 \pm 0.125$  y  $0.205 \pm 0.163$  respectively. DEA showed that the RBCs that exposed it showed a marked decrease of isolated cells and a pronounced increase of large aggregates in relation to the Controls, while the RBCs in which there was no exposure, the decrease of isolated cells with respect to Controls was lower and the increase of aggregates was homogeneously distributed among all categories. The experience concludes that the obtained values of the coefficients differ significantly in the RBCs that expose the T antigen from those that do not, so these techniques could be predictive to detect T unmasking.

**Keywords:** newborn larvae \* *Trichinella spiralis* \* desialylation \* T antigen

## Resumo

O objetivo do trabalho foi estudar a desialização de eritrócitos que desmarcaram o antígeno T e dos glóbulos que não o expõem, por contato com LRN de *T. spiralis*. Trabalhou-se com 15 suspensões de eritrócitos em meio enzimático, incubadas com LRN. Os GV controle foram incubados com solução salina. Para analisar o efeito do parasita sobre a exposição do antígeno T, foi aplicado o Método de Aglutinação anti T com antígeno T e se estudou a agregação pelos Métodos de Polibrene e de Análise Digital de Imagens, determinando CexpST, CCA e Distribuição dos agregados eritrocitários (DAE). A média dos coeficientes nos eritrócitos que expuseram o antígeno T foram CexpST=  $0.22 \pm 0.179$  e CCA=  $0.73 \pm 0.108$  e naqueles que não o expuseram  $0.86 \pm 0.125$  y  $0.205 \pm 0.163$  respectivamente. Foi demonstrado que os GV que o expuseram, apresentaram marcada diminuição de células isoladas e pronunciado aumento de grandes agregados em relação aos controles, enquanto que os GV nos quais não houve exposição, a diminuição de células isoladas com respeito aos controles foi menor e o aumento de agregados esteve homogeneamente distribuído entre todas as categorias. A experiência realizada conclui que os valores obtidos dos coeficientes diferem significativamente nos GV que expõem o antígeno T e nos que não, portanto estas técnicas poderiam ser preditivas para detectar desmascaramento T.

**Palavras-chave:** larvas recém-nascidas \* *Trichinella spiralis* \* desialização \* antígeno T

## Introducción

La trichinellosis es una enfermedad parasitaria causada por un nematodo filiforme perteneciente al género *Trichinella* que abarca varias especies con diferente distribución geográfica. *T. spiralis* causa la mayoría de los casos humanos en todo el mundo (1). Su patogenicidad es mayor que la del resto de las especies del género debido a que las hembras producen el número más alto de larvas recién nacidas, las cuales infectan el tejido muscular (2). Actualmente, la trichinellosis es una enfermedad endémica en Argentina, debido principalmente a las pautas culturales por las que es habitual el consumo humano de alimentos que contienen carne cruda o semi-cocida en forma de embutidos, chacinados y salzones, utilizándose para su elaboración la carne procedente de cerdos faenados y procesados en el ámbito familiar, sin inspección veterinaria ni diagnóstico apropiado para detectar la presencia de larvas infectantes (1).

Durante el ciclo biológico, las larvas recién nacidas de *Trichinella* (LRN) tienen contacto directo con los glóbulos rojos del hospedador debido a que circulan

por el torrente sanguíneo hasta arribar a las células musculares donde se enquistan.

En experiencias previas se demostró que las LRN producen el aumento de la agregación eritrocitaria, indicando que capturan el ácido siálico globular (3), así como también que la desialización que provocan puede exponer al antígeno críptico T del glóbulo rojo (4).

El antígeno T (Thomsen-Friedenreich) es una glicoproteína asociada a cáncer o tumor, que se encuentra ausente o enmascarada en los tejidos normales (5). Algunas sustancias presentes en ciertos microorganismos o sus lipopolisacáridos son responsables de la aparición de anticuerpos naturales anti-T, principalmente IgA e IgM, que se encuentran presentes en el suero humano normal de adultos, pero no en neonatos ni infantes tempranos (6).

El fenómeno Thomsen-Friedenreich, (poliaglutinabilidad de los hematíes humanos) se debe al desenmascaramiento del antígeno T por enzimas microbianas que eliminan residuos terminales de ácido siálico en la membrana del hematíe causando cambios en la estructura de la glicoproteína de membrana de los glóbulos rojos (GR). La activación T desencadena en el hombre adulto poliaglutinación y una posible hemólisis, trom-

bocitopenia y trombosis *in vivo* (7) y de ahí la importancia clínica de su investigación.

El objetivo del trabajo fue estudiar la desialización de eritrocitos que exponen antígeno T y de los glóbulos que no lo desenmascaran, por contacto con LRN de *T. spiralis*.

## Materiales y Métodos

### MUESTRAS

#### *Larvas recién nacidas de T. spiralis (LRN)*

Se utilizaron ratones CBI infectados con *T. spiralis*, provistos por el Bioterio del Instituto de Genética Experimental de la Facultad de Ciencias Médicas (UNR). Entre los 6 y 13 días post-infección, se obtuvieron hembras grávidas del intestino delgado de los ratones por cirugía, las cuales fueron incubadas en 100 µL de medio RPMI suplementado al 10% con suero fetal bovino y 250 µg/mL de gentamicina durante 18 horas a 37 °C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Las LRN fueron separadas de las hembras adultas y recolectadas en solución fisiológica con formol. A las 24 horas se prepararon concentrados de LRN no viables, para lo cual se lavaron las larvas 3 veces por centrifugación en solución salina y se realizaron los recuentos, por duplicado, en microscopio óptico (500 LRN/mL) (8).

Los protocolos para la obtención de LRN, así como también de otros estadios parasitarios de *T. spiralis*, son utilizados en líneas de investigación de las Facultades de Ciencias Médicas y de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR), los cuales fueron aprobados por los Comités de Bioética de ambas instituciones.

#### *Glóbulos rojos en medio enzimático de bromelina (GR)*

Se trabajó con eritrocitos Grupo 0 provenientes de donadores voluntarios sanos. Se colocó un volumen de sedimento eritrocitario, previamente lavado en solución salina, con un volumen y medio de bromelina durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, los glóbulos fueron lavados 3 veces con solución fisiológica (9).

### MÉTODOS

#### *Tratamiento de los eritrocitos*

El tratamiento consistió en incubar 50 µL del sedimento globular con igual volumen del concentrado de LRN a 37 °C durante 120 min, con agitación continua utilizando un agitador magnético (Decalab, Argentina) (GR Tratados).

Se realizó el tratamiento de 15 suspensiones eritrocitarias, y en cada uno de ellas hubo un control (eritrocitos en medio enzimático, sin contacto con LRN) que fue incubado de la misma manera con igual volumen de solución salina. Al finalizar el tiempo de incubación,

los sedimentos de GR Tratados y del correspondiente control fueron lavados 3 veces en solución salina y se prepararon suspensiones de distintas concentraciones a partir de ellos, según requería el método empleado posteriormente.

#### *Pruebas en tubo y placa de aglutinación anti-T con antígeno T*

A los fines de determinar si el tratamiento de los eritrocitos con las LRN, exponía el antígeno T, se prepararon suspensiones de GR tratados y GR controles al 2-5% para las pruebas en tubo y al 20% para las de placa. Se colocaron 20 µL de las suspensiones (2-5% y 20%) de GR tratados y controles en 2 tubos para cada prueba. A uno de cada par se le agregaron 20 µL de suero de individuos adultos sanos (sueros anti-T) y al restante 20 µL de suero de cordón (control negativo de anti-T). Todos los tubos se homogeneizaron por agitación y se colocaron, con tapones de goma, a 4 °C durante 24 h. Pasado este tiempo, para la prueba en placa se volcó el contenido de los tubos correspondientes en una placa de vidrio y para la prueba en tubo fueron centrifugados durante 1 min a baja velocidad (500 rpm) y luego fueron agitados. En ambos métodos se observó la presencia o ausencia de aglutinación (9).

Para estudiar la desialización eritrocitaria por efecto del tratamiento con las larvas, en los GR tratados y controles, se aplicaron los métodos de titulación por Polibrene y de Análisis Digital de Imágenes.

#### *Método de titulación por polibrene en placa de vidrio*

El método se aplicó simultáneamente en eritrocitos no tratados (Control) y en los mismos eritrocitos tratados con el parásito. Se realizaron diluciones seriadas progresivas en solución salina del Polibrene (Puro, 1/2; 1/4;.....1/128). A continuación, se colocaron en una placa de vidrio, 15 µL de la suspensión globular al 20% con 15 µL de cada una de las diluciones del Polibrene, mezclando con varilla de vidrio. Se homogenizó por movimientos circulares de la placa durante 1 min, hasta que se produjo la agregación entre los eritrocitos con carga negativa y el policatión Polibrene (10) (11).

A los fines de comparar la agregación de los glóbulos tratados con la del respectivo Control, se semicuantificó con cruces la agregación obtenida con cada dilución del policatión (4+, 3+, 2+, 1+, +/-, -) asignándole un *score* a cada una según Goudemand y Marsalet (12), de acuerdo con la siguiente escala:

4+	10
3+	8
2+	5
1+	2
+-	1 (agregación apenas visible)
-	0 (sin agregación)

Se determinó para cada uno de los 15 tratamientos el *Coficiente experimental de score total (CexpST)* como el cociente entre el *score* total de la agregación de los eritrocitos tratados y el *score* total de la agregación de los eritrocitos Control (11).

Este coeficiente es igual a 1 cuando no hay modificación de ácido siálico por acción del parásito y es igual a 0 cuando el tratamiento ocasiona la pérdida total del ácido siálico del eritrocito, o sea que la captación del mismo es máxima.

#### REACTIVOS

Polibrene 0,1%

Solución de reserva 10% (1 g de Polibrene + 10 mL de Solución Fisiológica)

Solución de Trabajo (5 mL de solución de reserva + 495 mL de Solución Fisiológica)

#### DISTRIBUCIÓN DE LOS AGREGADOS ERITROCITARIOS POR ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES

Los GR tratados y controles fueron suspendidos en plasma autólogo al 0,13% y mantenidos en reposo en un portaobjetos cóncavo durante 5 minutos para permitir la agregación. Las imágenes de las diferentes poblaciones de agregados para cada muestra, fueron obtenidas por duplicado con una cámara digital Mikova DCM500 (USB2.0) incorporada a un microscopio óptico (objetivo 40X). Se determinó la distribución del tamaño de los agregados eritrocitarios, para lo cual se realizó el conteo de agregados, y se clasificó de acuerdo con las siguientes categorías: células individuales; agregados de 2 ó 3 células; agregados de 4 a 6 y agregados de 7 o más células. Se calculó en las imágenes de cada muestra, el porcentaje de eritrocitos correspondiente a cada categoría y finalmente se promediaron los valores obtenidos. Se calculó el valor del Coeficiente de células aisladas (*CCA*) definido como la diferencia entre el número de células individuales iniciales (control) y finales (tratados) en relación al número de células aisladas observado antes del tratamiento. Cuando el valor de *CCA* es igual a 0 indica que no hubo variación en el número de células aisladas por acción del tratamiento, y cuando es igual a 1 señala la ausencia de células aisladas (agregación total) (13) (14).

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para comparar los valores de ambas variables (*CexpST* y *CCA*) se utilizó el *Test t* para muestras independientes, previa verificación de los supuestos exigidos (15).

## Resultados

Los resultados de las Pruebas de Aglutinación anti-T con antígeno T mostraron en 5 de las 15 suspensiones

globulares, que el tratamiento con las LRN provocó el desenmascaramiento del antígeno T. En 2 de estas suspensiones se observó la presencia de aglutinados en ambas pruebas, mientras que en las otras 3 solamente en el método en placa. Ninguno de los GR tratados, aglutinó al ser enfrentado a suero de cordón. Los GR controles no aglutinaron con sueros de adulto ni de cordón.

El *CexpST* obtenido por el método de Titulación por Polibrene, en los eritrocitos que expusieron el antígeno T, estuvo comprendido entre 0 y 0,39, siendo la media  $\pm$  desviación estándar=0,22 $\pm$ 0,155, mientras que en las suspensiones en que el criptoantígeno no se desenmascará los valores del coeficiente oscilaron entre 0,65 y 1 con una media  $\pm$  desviación estándar de 0,86 $\pm$ 0,125. Los análisis estadísticos determinaron que el valor promedio de *CexpST* cuando se expuso el antígeno fue significativamente menor que cuando no hubo exposición ( $p<0,0001$ ).

El estudio de la distribución de los agregados eritrocitarios mostró que las poblaciones de glóbulos rojos que expusieron el antígeno presentaron una marcada disminución de las células aisladas y un pronunciado aumento de los agregados formados por 7 o más glóbulos en relación a los controles correspondientes, mientras que en las suspensiones eritrocitarias donde no hubo exposición, la disminución de las células aisladas con respecto a los controles fue menor, y el aumento de agregados fue menos pronunciado y estuvo homogéneamente distribuido entre todas las categorías.

Los valores de *CCA* también variaron significativamente en los eritrocitos que expusieron el antígeno T y en los que no lo hicieron. En las suspensiones globulares en las que hubo desenmascaramiento T, el coeficiente varió entre 0,62 y 0,88 (media  $\pm$  desviación estándar = 0,73 $\pm$ 0,108), mientras que en las que no, el *CCA* alcanzó valores entre 0,01 y 0,45 (media  $\pm$  desviación estándar = 0,205 $\pm$ 0,163). Los resultados estadísticos mostraron que el valor promedio del coeficiente cuando se expuso el antígeno fue significativamente mayor que cuando no hubo exposición ( $p<0,0001$ ).

Los resultados se muestran en las Figuras 1 y 2.

## Discusión y Conclusiones

Los parásitos del género *Trichinella* infectan a animales domésticos y silvestres, así como también al hombre. Se ha comunicado que aproximadamente once millones de personas en el mundo pueden estar infectadas con parásitos de este género, siendo *T. spiralis* la especie que causa más infecciones en humanos. Las características que distinguen a las especies de *Trichinella* son el rango de distribución de sus hospedadores y la tolerancia a la temperatura (16).

El ciclo de vida de estos parásitos consta de dos fases. La primera, llamada enteral o entérica, se inicia cuan-

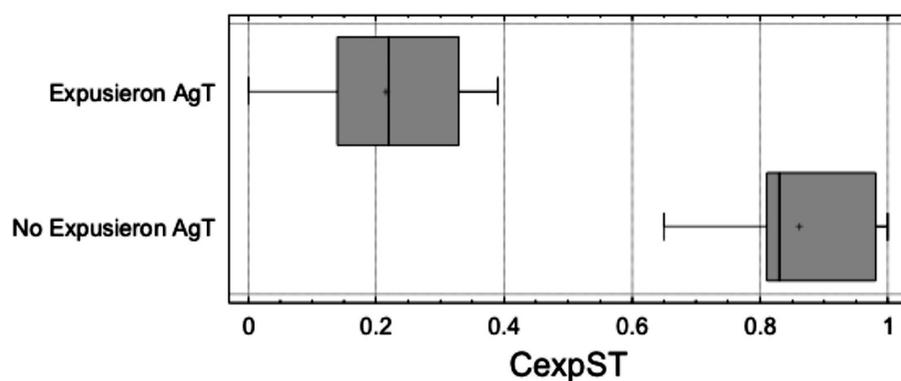


Figura 1. Valores de CexpST con y sin exposición T.

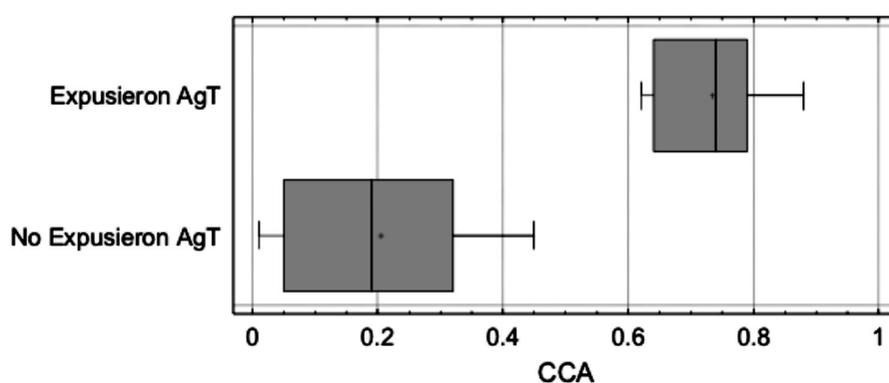


Figura 2. Valores de CCA con y sin exposición T.

do el hospedador ingiere carne cruda o mal cocida contaminada con larvas musculares de *Trichinella*, y la segunda, que es la fase sistémica, comienza cuando las hembras fecundadas producen y liberan LRN, las cuales penetran en la pared del intestino del hospedero y se distribuyen a otros tejidos a través de la corriente sanguínea o del sistema linfático (16). En esta segunda fase, el parásito tiene contacto directo con los glóbulos rojos de su hospedador, por lo que el estudio de los efectos que puede producir sobre los eritrocitos tiene importancia clínica.

La activación T está frecuentemente asociada con la producción de neuraminidasas de organismos como *Clostridium perfringens* y *Streptococcus pneumoniae*, *Bacteroides*, *Escherichia coli*, *Vibrio Cholerae*, bacilos gram-negativos como *Actinomyces* y el virus de la Influenza (17). El grado de activación T de los glóbulos rojos puede estar influenciado por la cantidad de neuraminidasas en la circulación sanguínea y probablemente disminuya por inhibidores de neuraminidasas presentes en el suero. Estos glóbulos rojos transformados son destruidos rápidamente por hemólisis intravascular y eliminados de la circulación debido a la fijación de complemento y a la unión de IgM anti-T (17).

Investigaciones previas han comunicado que las LRN de *T. spiralis* alteran la agregación eritrocitaria (3). La desialización producida por las larvas provoca modificaciones hemorreológicas (18), así como también puede exponer el antígeno T en los glóbulos rojos (4).

El Método de Titulación por Polibrene permite estudiar, de forma indirecta, la carga y el contenido de ácido siálico superficial del eritrocito. Este policitación induce la agregación inespecífica de los glóbulos rojos. Mollison ha descrito esta técnica en tubo (9), utilizando la misma concentración de polímero que fue empleada en esta experiencia en placa (0,1%). Este autor ha comunicado que la deficiencia de ácido siálico debe superar el 12% para que los hematíes no sean agregados (9). Los resultados mostraron que la media  $\pm$  desviación estándar de CexpST varió significativamente para las poblaciones globulares que expusieron el antígeno T y para las que no. En las suspensiones que hubo exposición, el valor medio fue  $0,22 \pm 0,155$ , lo que indica la pérdida casi completa de ácido siálico, mientras que en las poblaciones que no lo desenmascararon fue  $0,86 \pm 0,125$ , valor que representa una leve desialización.

El Análisis Digital de Imágenes es otra metodología de utilidad para estudiar la disminución en la carga

eritrocitaria, traducida en el aumento de la agregación (14). El valor promedio de CCA en las poblaciones globulares que expusieron el antígeno T ( $0,73\pm 0,108$ ) señaló una marcada agregación y disminución de células aisladas, en concordancia con el estudio de la Distribución de los agregados eritrocitarios, en el cual se observaron bruscas disminuciones de células aisladas en relación al Control y pronunciado aumento de los agregados formados por 7 o más glóbulos.

En las poblaciones eritrocitarias que no lo expusieron el valor promedio de CCA ( $0,205\pm 0,163$ ) indicó una leve variación en el número de células aisladas por acción del tratamiento, coincidiendo con las observaciones del estudio de la Distribución de los agregados eritrocitarios, donde también se evidenciaron pequeños aumentos de agregados distribuidos uniformemente entre todas las categorías en relación a los controles correspondientes. El análisis estadístico determinó qué valor promedio de CCA cuando se expuso el antígeno fue significativamente mayor que cuando no hubo exposición.

La experiencia realizada permite concluir que los valores de los coeficientes obtenidos por estos métodos difieren marcadamente en las poblaciones globulares que exponen el antígeno T y en las que no, por lo que estas técnicas podrían ser predictivas para detectar el desmascaramiento del antígeno T. Debido a la importancia clínica de la activación T, se propone continuar estos estudios con un mayor número de muestras, a los fines de determinar el valor de corte de los coeficientes en los eritrocitos que lo exponen y en los que no.

#### CORRESPONDENCIA

Dra. PATRICIA PONCE DE LEÓN  
Área Parasitología, Facultad de Cs. Bioq. y Farmacéuticas  
Universidad Nacional de Rosario  
Suipacha 531  
2000 ROSARIO, Argentina  
E-mail: tefu1958@hotmail.com

#### Referencias bibliográficas

- Caracostantogolo J, Martínez M. Epidemiología de la trichinellosis y situación en la Argentina. *Vet Argent* 2009; 26(257). Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/parasitarias/parasitarias\\_cerdos/08-Trichinellosis.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_cerdos/08-Trichinellosis.pdf). (Fecha de acceso: 10 de julio de 2017).
- Pozio E, KD Murrell. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Adv Parasitol* 2006; 63: 367-439.
- Ponce de León P, Fernandez A, Racca L, Vasconi MD. Alteración de la agregación eritrocitaria por larvas recién nacidas de *Trichinella spiralis*. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2015; 49 (4): 417-23.
- Ponce de León P, Nocelli J, López Murúa G. Exposición de criptoantígeno eritrocitario por larvas recién nacidas de *Trichinella spiralis*. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2017; 51 (4): 669-73.
- Carrasco Carrasco M, García Espinosa Rubio Campal F. *Hematología 2: Hemostasia*. Banco de Sangre. Control de Calidad. Madrid: Ed Paraninfo, 2002.
- Borollessa H, Modi N, Cockburn H, Malde R, Edwards M, Roberts I, *et al.* RBC T activation and hemolysis in a neonatal intensive care population: implications for transfusion practice. *Transfusion* 2002; 42: 1428-34.
- Martínez de Salinas J, Cosme A, Blasco E, Torrado J, Arenas JI, Cuadrado E. Anticuerpos circulantes anti T (Thomsen-Friedenreich) y expresión anormal de este antígeno en carcinomas digestivos. *Rev Doyma Inmunol* 1988: 8-11.
- Luebke RW. Nematodes as host resistance models for detection of immunotoxicity. *Methods* 2007; 41 (1): 38-47.
- Mollison PL. *Transfusión de Sangre en Medicina Clínica*. 1ª ed. Madrid: Ed Reverté SA; 1987.
- Lin M. A safe, simple and efficient cross matching using the slide polybrene method. *Transfusion Today* 2006; 66: 28.
- Goudemand M, Marsalet ID. *Elements d'immuno-hématologie*. Paris: Flammarion, 1967.
- Ponce de León P, Racca L, Menendez M, Biondi C, Valverde J. Acción de *Ascaris lumbricoides* sobre la carga aniónica de eritrocitos y eritrocitos desializados. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2012; 46 (2): 247-56.
- Foresto P, D'Arrigo M, Carrera L, Etcheparre R, Valverde J, Rasia R. Evaluation of red blood cell aggregation in diabetes by computerized image analysis. *Medicina* 2000; 60: 570-2.
- Ponce de León P, Del Balzo G, Riquelme B. Biorheological action of *Ascaris lumbricoides* larvae on human erythrocytes. *Cell Biochem Biophys* 2013; 65 (2): 237-42.
- Wackerly D, Mendenhall W, Scheaffer R. *Estadística matemática con aplicaciones*. 7ª ed. México: Thomson Learning; 2013.
- Ortega Pierres MG. Triquinelosis. *Ciencia* 2017; 68 (1): 74-7.
- Naomi L. Review T activation. *British J Haematol* 2001; 112: 259-63.
- Ponce de León P, Toderi M, Castellini H, Riquelme B. In vitro alterations of erythrocyte aggregation by action of *Trichinella spiralis* newborn larvae. *Clin Hemorheol Microcirc* 2017; 65: 195-204.

**Recibido: 31 de julio de 2017**

**Aceptado: 29 de septiembre de 2017**