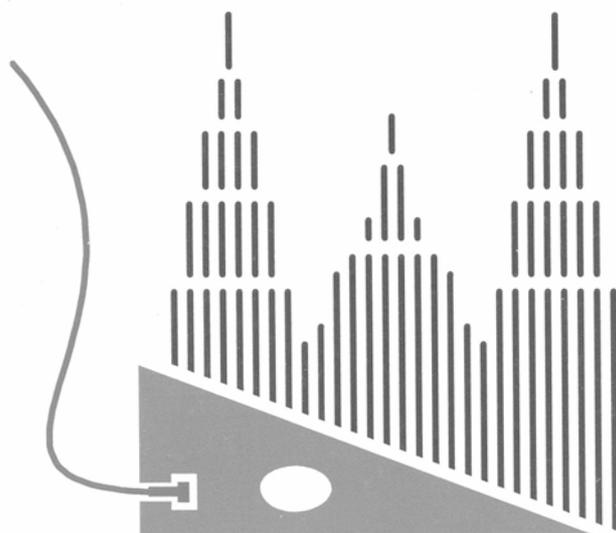


IV CONGRESO IBERICO DE PARASITOLOGIA

Santiago de Compostela, 24-28 de Julio de 1995

Libro de Resúmenes



Editado por

Secretaría del IV Congreso Ibérico de Parasitología

El objetivo del presente trabajo ha sido el de comprobar, en ratones, si existe una relación entre el isotipo de los anticuerpos y el grado de protección. Mediante el isotipo de los anticuerpos se ha pretendido obtener también una primera aproximación sobre el tipo de respuesta (Th1/Th2) inducida por los parásitos en infestación natural. Las pruebas se llevaron a cabo administrando (vía s.c.) a lotes de 5 ratones (Swiss) los SGE-2 (75 µg repartidos en 3 dosis a intervalos de 2 y 6 semanas) con los adyuvantes de Freund y en Al(OH)₃ según protocolos habituales. Otros lotes se sometieron a infestaciones naturales con adultos de los parásitos en estudio. Cada ensayo fue acompañado de los correspondientes lotes de ratones controles a los que sólo se administraron los adyuvantes y PBS. A los 7 días de la última dosis, sobre los animales inmunizados y controles se alimentaron 15 adultos y 100 larvas de *O. erraticus*. Sobre estos ejemplares se midieron diversos parámetros (peso, fecundidad, etc.). En las muestras de sangre que se tomaron a los ratones se determinaron, por ELISA, IgE e IgG totales y subclases (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3).

De acuerdo con los resultados obtenidos, los SGE-2 con los adyuvantes de Freund inducen unos altos niveles de IgG1, IgG2a (indicativa de una respuesta por vía Th1) e IgG2b. Por el contrario, el Al(OH)₃ y las infestaciones naturales inducen principalmente IgG1 pero no IgE (tampoco los primeros adyuvantes) lo que hace difícil la interpretación de la vía (Th1/Th2) por la que derivan la respuesta inmunitaria.

Cualquiera que fuera el isotipo, ninguna de las respuestas mostró tener valor protector lo que pudo deberse a la gran facilidad con la que se alimentan las especies en estudio sobre ratones. A la vista de las hemorragias que producen en estos animales -notoriamente más grandes que las que producen en los cerdos, sus hospedadores naturales- no parece posible que su alimentación pueda ser bloqueada por una respuesta inmunitaria.

En definitiva, se concluye que por la aparente desproporción entre las capacidades hemostáticas-antihemostáticas de ratones y *Ornithodoros*, los primeros no parecen ser un buen sistema experimental para realizar estudios como el presente.

Financiación: CAICYT AGF92-0046. CEE AIR 3-CT93-1332.



VALORACION DE LA CAPACIDAD PROTECTORA DE UN EXTRACTO ANTIGENICO DE VERMES ADULTOS DE *FASCIOLA HEPATICA* FRENTE A *SCHISTOSOMA BOVIS*.

OLEAGA, A.¹; MURO, A.¹; RAMAJO, V.¹; LOPEZ, A. J.¹; RODRIGUEZ OSORIO, M.²; GONZALEZ LANZA, C.³; GOMEZ GARCIA, V.²

¹Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (CSIC). Unidad de Patología Animal.
²Instituto de Parasitología y Biomedicina "Lopez Neyra" de Granada (CSIC). Dpto de Inmunología y Biología Celular.
³Estación Agrícola Experimental de León (CSIC). Dpto de Producción y Sanidad Animal.

Diferentes autores han demostrado la existencia de protección cruzada entre *Fasciola hepatica* y *Schistosoma bovis* en infestación experimental. En la actualidad se están llevando a cabo estudios encaminados a la identificación de componentes antigénicos de las diferentes fases evolutivas de estos trematodos, con vistas al desarrollo de una vacuna efectiva contra las dos parasitosis.

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar la capacidad protectora de un extracto completo de vermes adultos de *F. hepatica* frente a la infestación por *S. bovis*.

Se han utilizado 20 Hamsters dorados (*Cricetus auratus*) distribuidos en dos grupos iguales. Los animales del grupo I recibieron 3 dosis de 125 µg de proteína, cada 10 días, inoculadas subcutáneamente. La primera con adyuvante completo de Freund y las otras dos con incompleto (proporción adyuvante/extracto antigénico 1:1). Los animales del grupo II (controles) se inyectaron con PBS y adyuvante siguiendo el mismo protocolo que el grupo anterior. A los 8 días de la 3ª dosis todos ellos fueron infestados con 200 cercarias de *S. bovis* por el procedimiento de baño durante media hora.

La respuesta protectora se cuantificó a las 11 semanas postinfestación mediante el recuento de vermes adultos y huevos en hígado e intestino. Se tomaron muestras de sangre a distintos tiempos y se midió el nivel de anticuerpos generados mediante ELISA indirecto, tapizando las placas con 2,5 µg/pocillo de antígeno completo de

F. hepatica. Los sueros fueron diluidos a 1:50 y el conjugado (RAHa/ IgG (H+L)/PO. Nordic Immunology) a 1:1000.

Los resultados muestran que el número de vermes en animales inmunizados ($16,7 \pm 7,1$) fue significativamente ($p=0,03$) inferior al de los controles ($8,2 \pm 5,6$). No existen resultados concluyentes referentes a las diferencias en el número de huevos en hígado e intestino por la gran variabilidad de los datos dentro de cada grupo.

La respuesta inmune humoral generada en los animales inmunizados fue claramente superior a la de los controles a lo largo de toda la prueba.

Estos resultados demuestran que existen componentes antigénicos en el extracto completo de adultos de *F. hepatica* que protegen frente a infestaciones subsiguientes por *S. bovis*.

Estudios posteriores irán encaminados a la identificación de estas moléculas y a la purificación de las mismas.

Financiación: CICYT. AGF93-0042.



EVASION DE LA RESPUESTA INMUNE DE LA GARRAPATA MARRON DEL PERRO (*RHIPICEPHALUS SANGUINEUS*); HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN CONEJO.

MARTÍN HERNÁNDEZ, R.; OLMEDA, A.S.; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, J.A.

Departamento de Patología Animal I (Sanidad Animal). Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

El mecanismo que permite a las garrapatas alimentarse durante largos periodos de tiempo a pesar de la respuesta inmune que el hospedador elabora frente a ellas es aún desconocido. Se ha sugerido que estos ectoparásitos son capaces de producir inmunosupresión y que pueden, mediante una secreción de sus glándulas salivares, evadir la respuesta inmune del hospedador de forma específica. Como quiera que el tiempo de alimentación de las garrapatas depende del estadio de desarrollo y del sexo, nos propusimos conocer la respuesta que distintos extractos de *Rhipicephalus sanguineus*, la garrapata marrón del perro, producían en conejos sensibilizados y no sensibilizados.

Utilizamos un total de 14 conejos (Neozelandés x Gigante de California). Siete de ellos habían servido como hospedadores de los distintos estadios de desarrollo de nuestra colonia de *R. sanguineus*. Los otros siete conejos fueron utilizados como controles negativos ya que no habían tenido contacto previo con garrapatas. Con el fin de facilitar la visualización de las reacciones cutáneas todos los animales fueron inyectados por vía intravenosa con 5 ml de una solución de azul de Evans al 5%. Cada conejo recibió 6 inoculaciones intradérmicas en zonas del lomo depiladas al efecto un día antes, las cuatro primeras de 15 a 20 minutos tras la inyección intravenosa y las dos restantes 5 horas después. En un primer momento se inoculó histamina (0,5µg), agua libre de pirógenos, PBS estéril y 5 µg de uno de los siguientes extractos de garrapatas: huevos, larvas, ninfas, glándulas salivares de macho, intestino medio de macho, glándulas salivares de hembra o intestino medio de hembra. En un segundo periodo se volvió a inocular histamina (5µg) y el mismo extracto. La reacción cutánea se observó a los 30 minutos y 1, 2, 5, 24, 48 y 72 horas.

Las reacciones provocadas por la inyección de histamina se presentaron como zonas de induración de menos de 1,8 cm con un centro de color azul grisáceo en el momento de máxima reacción (5-24 horas tras la inyección). En los controles la inoculación con extractos de garrapatas produjo una reacción muy ligera superando sólo en una ocasión los 2 cm y en todos los casos desapareció a las 5 horas. En los animales previamente sensibilizados se manifestó como un nódulo duro, prominente, redondo y rojizo entre 2 y 6,5 cm. La segunda inoculación provocó, salvo en el extracto de ninfas, una reacción de 0,1 a 0,8 cm superior a la primera. La mayor reacción se observó con el extracto de glándulas salivares de machos tanto en la primera como en la segunda inoculación, superando los 5 cm de diferencia frente a la reacción producida por el mismo extracto en los animales testigos. Los extractos de glándulas salivares obtenidos de hembras produjeron reacciones 2,3 cm inferiores a los de los machos en ambas inoculaciones.

Nuestros resultados sugieren que quizá las hembras de *R. sanguineus* sean capaces de elaborar alguna sustancia para evadir la respuesta inmune del hospedador permitiéndoles alimentarse durante periodos de hasta 30 días. De una forma similar, larvas y ninfas podrían completar su alimentación. Sólo los machos, que prácticamente no se alimentan sino que deambulan en busca de hembras no necesitan de este mecanismo defensivo.