

2011 Octubre, 2(3): 1-1

## Caracterización clínica e histopatológica de la infección por el subtipo zoonótico Ila A21G1R1 de *Cryptosporidium parvum* en modelo murino.

Del Coco, VF<sup>1,2</sup>, Sidoti, A<sup>3</sup>, Santín, M<sup>4</sup>, Drut, R<sup>3</sup>, Basualdo, JA<sup>1</sup>, Córdoba, A<sup>1,5</sup>.

1Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. Calle 60 y 120 s/n. La Plata (1900). 2Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. 3Cátedra de Patología A, Fac. de Cs Médicas, UNLP. 4Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, USA. 5Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

E-mail: acordoba@aetos.med.unlp.edu.ar

### Introducción

*Cryptosporidium parvum* es un parásito zoonótico cuya importancia ha aumentado en los últimos tiempos por su asociación con distintas causas de inmunosupresión. Variaciones en la patogenicidad y virulencia en los distintos subtipos de *C. parvum* han sido reportadas. Este fenómeno podría estar relacionado con distintos mecanismos de invasión y/o distinta localización intestinal.

### Objetivos

El objetivo de este trabajo fue caracterizar el patrón de colonización intestinal y manifestaciones clínicas del subtipo zoonótico Ila A21G1R1 de *C. parvum* en modelo murino.

### Materiales y Métodos

Materia fecal positiva para *Cryptosporidium* spp. proveniente de un ternero de la Pcia de Buenos Aires fue purificada mediante gradiente de sacarosa; el ADN parasitario fue extraído mediante kit Qiagen®, y caracterizado molecularmente mediante PCR anidada y secuenciación. Ratones N:NIH Swiss (n=15), inmunosuprimidos (IS) con 40 µl/ml dexametasona/oral/día, fueron infectados al día 8 de IS con  $1 \times 10^5$  ooquistes de *C. parvum* caracterizado como subtipo Ila A21G1R1. Controles de IS y de infección fueron utilizados. Evaluación clínica: control de peso semanal. Evaluación histopatológica: Tres ratones de cada grupo fueron sacrificados semanalmente durante 35 días para evaluación histopatológica. El intestino fue extraído y sectorizado. Las muestras fueron fijadas en formol al 20%, embebidas en parafina, seccionadas y coloreadas con hematoxilina y eosina, y examinadas al microscopio óptico a 450X. Un score de infección y de apoptosis fue utilizado. La marcación inmunohistoquímica de mucosa intestinal mediante anticuerpos anti CD3 y CD20 fue efectuada para certificar el estado inmune. Análisis estadístico: El test ANOVA multifactorial utilizando test posthoc de Tukey fue utilizado. La significancia se estableció para valores de  $p < 0.05$ .

### Resultados

La IS de los animales fue corroborada mediante inmunohistoquímica. Los animales IS e inoculados con *C. parvum* Ila A21G1R1 resultaron infectados en su totalidad y presentaron un 100% de sobrevida. Los animales control no evidenciaron infección por *Cryptosporidium*. Los ratones infectados presentaron una ganancia ponderal de peso inferior a la alcanzada por el grupo control ( $p = 0,0000$ ). El examen histológico reveló la presencia de *C. parvum* Ila A21G1R1 a nivel intestinal en los animales infectados. Los ratones presentaron infección persistente en duodeno, yeyuno proximal, yeyuno distal e íleon, con algunas fluctuaciones. Asociación estadísticamente significativa entre infección y días post infección (p.i.) fue evidenciada, sobre todo a los días 7, 21, 28 y 35 p.i. El íleon fue la región más afectada a los días 21, 28 y 35 p.i. Variaciones regionales se evidenciaron con respecto a la apoptosis ( $p = 0,0000$ ). El yeyuno proximal y distal fueron las regiones más afectadas. Una correlación entre infección y apoptosis fue evidenciada ( $p = 0,0224$ ), especialmente al día 35 p.i. a nivel de yeyuno proximal ( $p = 0,0008$ ).

### Conclusiones

El presente modelo de infección ha permitido la caracterización histológica, inmunológica y clínica de la infección por *C. parvum* Ila A21G1R1. La implementación de este modelo en estudios posteriores con otros subtipos de *C. parvum* permitirá identificar posibles variaciones en la virulencia de los mismos.