

## Efecto inmunosupresor de la infección por *Trypanosoma musculi* (Mastigophora: Trypanosomatidae) en la toxoplasmosis experimental

Loretta Piccolo-Johanning, Vivian Kellerman-Guterman, Idalia Valerio-Campos & Misael Chinchilla-Carmona

Departamento de Investigación y Cátedra de Parasitología Médica, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED), San José Costa Rica, América Central; loretta\_piccolo@hotmail.com, vivik01@hotmail.com, valeriaci@ucimed.com, chinchillacm@ucimed.com

Recibido 12-IV-2012. Corregido 10-XII-2012. Aceptado 24-I-2013.

**Abstract: Immunosuppressor effect of *Trypanosoma musculi* (Mastigophora: Trypanosomatidae) on experimental toxoplasmosis.** The immunosuppression caused by species of the gender *Trypanosoma* has been widely documented. The influence over experimental infections with *Toxoplasma gondii* is evident when using *Trypanosoma lewisi*, a natural parasite of white rats. We decided to test the effect of *Trypanosoma musculi* from mice, an organism with very similar biological characteristics to *T. lewisi*, to see if this trypanosomatid could induce a similar effect. Four groups of Swiss mice were inoculated with *T. musculi* previously to infection with *T. gondii*, and we determined the survival of the animals, as well as the number of cysts developed in the brain of survivors. We isolated and tested different strains of *T. gondii* from different sources. In a first experiment, the animals were previously inoculated with *T. musculi* at different times prior to the infection with *Toxoplasma*; this allowed us to determine that the immunosuppression process resulted more evident when *T. musculi* inoculation was made four days before. In a second experiment, we used different inoculi dose and found that it did not influenced the process. Furthermore, the results were negative when evaluating if the amount of the inoculated tryptomastigote influenced the process. In order to demonstrate if there were differences in the immunosuppressive effect, related to *Toxoplasma* strains, groups of mice were inoculated with brain cysts of TFC, TLP, TLW and TBT strains. Excluding the TLP strain, that resulted to be very pathogenic regardless the previous inoculation with *T. lewisi*, the other strains kept the same pattern of immunosuppression in mice, whose survival time was shorter as the presence of cysts in the brain was higher. These observations were in agreement with an experimental immunosuppression model, associated with immunosuppressive diseases, specially cancer and AIDS. Rev. Biol. Trop. 61 (2): 981-990. Epub 2013 June 01.

**Key words:** *Toxoplasma gondii*, immunosuppression, *Trypanosoma musculi*, experimental model, immunity.

La prevalencia de infecciones por *Toxoplasma gondii* en el ser humano es de 5-90%, dependiendo de la zona geográfica (Bojar & Szymanska, 2010). En Costa Rica, la seroprevalencia es de un 58% (Zapata *et al.* 2005). La presentación aguda de la parasitosis es poco frecuente, por lo que en la mayoría de los casos cursa como una enfermedad crónica, debido a que la acción inmunológica del hospedero rápidamente bloquea la reproducción del parásito, el cual forma quistes en músculo y cerebro especialmente, que usualmente se mantienen latentes a lo largo de la vida del

hospedero (Dubey & Jones 2008). En el caso de individuos inmunodeprimidos ya sea por causas naturales (cáncer, infecciones con VIH, Lupus, entre otros) (Sitoe *et al.* 2010) o por tratamientos excesivos con inmunosupresores, el parásito puede activarse produciendo una toxoplasmosis aguda (Holland 2003, Elmore *et al.* 2010, Solene *et al.* 2010).

Los fenómenos de inmunosupresión mencionados anteriormente se han estudiado experimentalmente, tanto para *T. gondii* (Kankova *et al.* 2010 & Da Silva *et al.* 2010) como para otros parásitos intracelulares (Uzonna *et*

al.1998, Da Silva *et al.* 2010, Fazzani *et al.* 2011). En el caso de la toxoplasmosis, se han realizado varios estudios que revelan claramente esta situación, especialmente en cuanto a infecciones concomitantes se refiere. El hecho de que la infección con tripanosomas africanos induce procesos de inmunosupresión claramente demostrados (Darji *et al.* 1992, Uzonna *et al.*1998) dio origen a varios estudios en las ratas blancas (*Rattus rattus*). Estos animales presentan una clara resistencia natural a la toxoplasmosis, la cual siempre se manifiesta en ellos como una enfermedad crónica (Chinchilla *et al.* 1981,1982, 1985), independientemente de la cepa del parásito y la edad de los animales (Guerrero *et al.*1995, Albright & Albright 1991). En tales estudios, se demostró que el *Trypanosoma lewisi*, un parásito normal de la rata, que no provoca patología sobre el animal (ya que la infección es autolimitada), induce un efecto inmunosupresor importante que activa la toxoplasmosis en estos animales. Este efecto se produce tanto al infectar los animales vía intraperitoneal con taquizoitos, la forma más activa del parásito, como con ooquistes, estado evolutivo de infección oral del *T. gondii* (Guerrero *et al.* 1997). *T. musculi* cuyo hospedero es el ratón (*Mus musculus*), pertenece al mismo grupo Stercoraria de *T. lewisi*; además presenta prácticamente las mismas características biológicas e inmunológicas del tripanosomátido de ratas (Viens *et al.* 1974). Por esta razón consideramos que el mismo efecto inmunosupresor podría presentarse en ratones infectados con *T. musculi*. Estos últimos animales son susceptibles a la mayoría de las cepas de *T. gondii* por lo que el estudio trata de agudizar la infección crónica o intensificarla en los ratones infectados con una cepa adecuada del parásito. Los estudios experimentales que han tratado de dilucidar estos supuestos, constituyen la base de este estudio.

## MATERIALES Y METODOS

**Animales:** En todos los experimentos se usaron ratones machos y hembras (*Mus musculus* cepa Swiss), con un peso

promedio de 23g. Para los experimentos varios grupos de cuatro a cinco animales se mantuvieron bajo las condiciones recomendadas por la ley No. 7451 sobre Bienestar de los Animales (La Gaceta nº 44 del 04 marzo de 1998 de Costa Rica), con suministro de alimento y agua *ad libitum* por un máximo de 30 días, tiempo límite de todos los experimentos.

**Parásitos:** Se emplearon las cepas 30182 de *T. musculi* de la American Type Culture Collection (ATCC) y las cepas de *T. gondii* siguientes, caracterizadas como cepas de tipo crónico: TFC, TLW, TLP aisladas de las heces de *Felis catus*, *Leopardus wiedii* y *Leopardus pardalis* respectivamente, así como la cepa TBT aislada de una muestra de carne de un bovino (*Bos taurus*). La cepa de *T. musculi* se mantuvo en el laboratorio inoculándola vía intraperitoneal (i.p.) semanalmente en ratones Swiss; las de *T. gondii*, por ser de tipo crónico, se traspasaron cada dos a tres meses, por inoculación de quistes del parásito en el tejido cerebral a ratones sanos. Para los procesos de inoculación, sacrificio y disección se siguieron los protocolos establecidos por la ley mencionada.

**Modelo experimental:** Grupos de cuatro o cinco ratones fueron inoculados vía intraperitoneal con 0.2mL de dilución con  $10^6$  de tripomastigotos de *T. musculi*, obtenidos por sangrado de animales previamente infectados, entre los meses de Julio 2010 a Agosto 2011. Otro grupo de ratones, con características similares, y que no fue infectado con el tripanosomátido, sirvió como control. Después de un tiempo establecido para cada experimento, que varió entre cuatro y siete días, los ratones de todos los grupos fueron inoculados i.p con 0.2mL de quistes de *T. gondii*. Estos quistes fueron obtenidos al extraer cerebros de ratones previamente infectados con las diferentes cepas; la cantidad a inocular se determinó al establecer el número de quistes por gramo de tejido. Se prepararon diluciones del macerado del cerebro, para establecer el número de quistes a inocular, de acuerdo con los lineamientos

específicos de cada experimento (Holst & Chinchilla 1990, Guerrero *et al.* 1997). Posteriormente, se hizo el control de supervivencia de los animales, con un tiempo máximo y final del experimento de 30 días. Después del mes de infección, los animales supervivientes fueron sacrificados para determinar en ellos el número de quistes por gramo de cerebro, de acuerdo con estudios previos (Holst & Chinchilla 1990). Todos estos datos y los relativos a la supervivencia, fueron evaluados al comparar los resultados obtenidos en los ratones inoculados y sin inocular con *T. musculi*.

Con base en los lineamientos anteriores se procedió a realizar los siguientes experimentos específicos de comprobación de la hipótesis planteada.

1. Con el objeto de comprobar si *T. musculi* induce un efecto inmunosupresor sobre la toxoplasmosis experimental, cuatro grupos de cuatro ratones fueron inoculados con  $10^6$  tripomastigotos por animal; el quinto grupo no fue inoculado y sirvió como control. Posteriormente, los grupos uno, dos, tres y cuatro fueron infectados con 50 quistes de *T. gondii* (cepa TLW) después de cuatro, cinco, seis y siete días respectivamente, y el grupo cinco recibió los quistes a los cuatro días, todo de acuerdo con la metodología descrita en trabajos previos (Guerrero *et al.* 1997). En el experimento que se extendió por 30 días, se usaron 20 ratones en total.
2. En el experimento anterior se determinó que existía algún efecto inmunosupresor sobre la toxoplasmosis experimental y que los mejores resultados se obtenían cuando la infección con el tripanosoma se realizaba cuatro días antes de inducir la toxoplasmosis experimental. Para establecer si el número de tripanosomas infectados era un factor importante en el proceso, se procedió a inocular seis grupos de cinco ratones con  $4 \times 10^7$ ,  $4 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^3$ ,  $4 \times 10^1$ , 4 y  $< 4$  tripomastigotos por ratón en cada grupo, respectivamente; el grupo siete no

fue inoculado con este parásito. Después de cuatro días, los animales de los siete grupos fueron infectados con aproximadamente 50 quistes de *T. gondii* (cepa TLW). El total de animales usados fue de 35 en este experimento que se prolongó por 30 días.

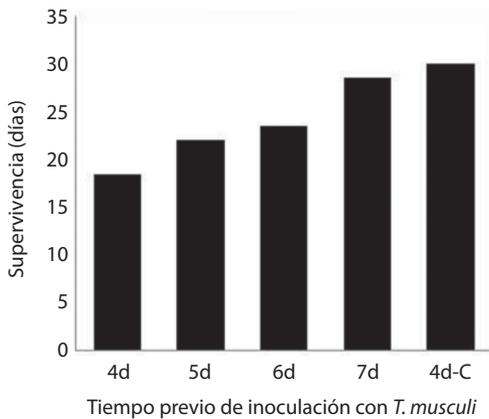
3. Se realizó un tercer experimento para establecer si el efecto inmunosupresor presentaba variantes debidas al tipo de cepa de *T. gondii*. Para cada una de las cepas de este parásito, TFC, TLW, TLP y TBT se prepararon dos grupos de cinco ratones, uno de los grupos se infectó previamente con *T. musculi* y el otro no; después de cuatro días los dos grupos se inocularon con 25 quistes de *T. gondii* de la cepa respectiva. El inóculo fue más bajo con la idea de contar con mayor número de sobrevivientes y establecer así las diferencias del caso en cuanto a la cantidad de quistes en el cerebro de los animales. De acuerdo con el número de grupos establecidos, se inocularon un total de 40 ratones, algunos de los cuales murieron antes de los 30 días, tiempo máximo de duración del experimento.

Para todos los tres experimentos específicos anteriormente descritos, una vez realizadas las inoculaciones se procedió de acuerdo con el modelo experimental general en el control de supervivencia y determinación del número de quistes por gramo de cerebro de los supervivientes.

Los datos correspondientes a la determinación de las diferencias entre promedios del número de quistes de *T. gondii* en animales con o sin previa infección con *T. musculi*, fueron analizados con estadística paramétrica y no paramétrica (prueba de suma de rangos Wilcoxon-Mann-Whitney para ambos casos). Para analizar la supervivencia de los animales en los diferentes experimentos se utilizó la prueba de estimador de Kaplan-Meier y la prueba t student, ampliamente conocida y más adecuada para experimentos con un número pequeño de datos.

## RESULTADOS

En el primer experimento se demostró que la inoculación previa con *T. musculi* reduce la supervivencia de los animales infectados con *T. gondii* (Fig. 1). En efecto gran cantidad de taquizoítos fueron encontrados en el exudado peritoneal de los ratones que murieron antes de los 30 días. El menor promedio de supervivencia se presentó en aquellos ratones en que la infección con el tripanosoma fue de cuatro días antes de la inoculación con *T. gondii* ( $p < 0.05$ ),



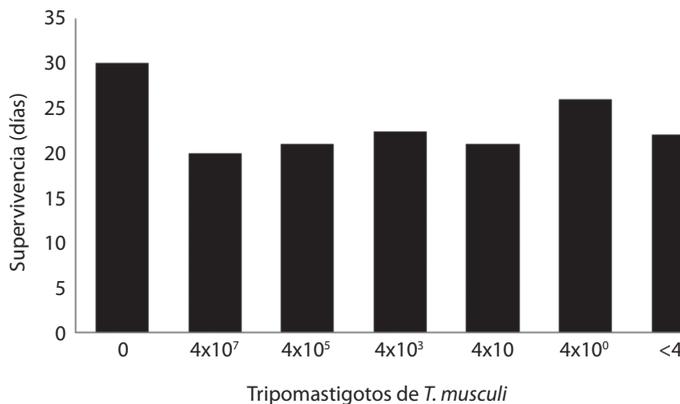
**Fig. 1.** Supervivencia de ratones infectados con *T. gondii* previa inoculación con *T. musculi*.

**Fig. 1.** Survival time of mice infected with *T. gondii* after inoculation with *T. musculi*.

aumentando proporcionalmente con el número de días de infección previa ( $p < 0.05$ ). Por lo tanto, se estableció el tiempo previo de cuatro días para la infección con *T. musculi* para los siguientes experimentos.

Aunque fueron pocos los datos obtenidos, porque varios animales no sobrevivieron los 30 días establecidos como final del experimento, el número de quistes/g de cerebro en los animales no inoculados con *T. musculi*, 16 561, fue menor que aquellos que sobrevivieron de los grupos con tres y cuatro días de inoculación previa con el tripanosoma, 38 720 y 21 069, respectivamente.

Al estudiar la influencia de la cantidad de tripanosoma inoculados con el efecto inmunosupresor observado, se determinó que todos los animales infectados solamente con *T. gondii* sobrevivieron los 30 días, mientras que los otros presentaron promedios de supervivencia que oscilaron entre los 20 y 26 días (Fig. 2). Por lo tanto, el efecto inmunosupresor se mantuvo ( $p$  entre  $< 0.025$  y  $0.05$ ), pero no existieron diferencias significativas aplicables a la cantidad de tripomastigotos inoculados ( $p > 0.05$ ). El número de quistes por gramo de cerebro en los ratones control sobrevivientes (datos no presentados) fue mucho menor (3 034), que el de los animales inmunosuprimidos (alrededor de 11 000).



**Fig. 2.** Supervivencia de ratones infectados con *T. gondii* previa inoculación con cantidades diferentes de tripomastigotos de *T. musculi*.

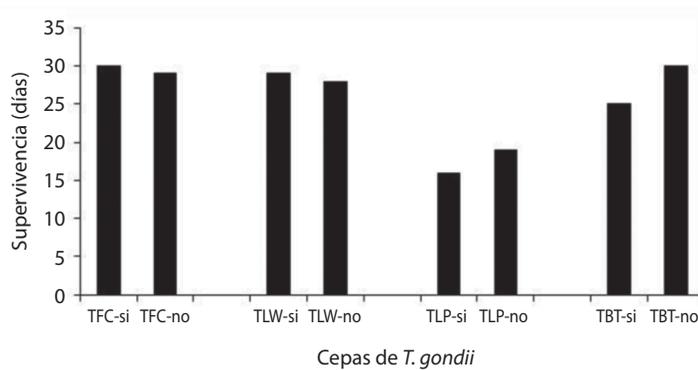
**Fig. 2.** Survival time of mice infected with *T. gondii* previously inoculated with different number of *T. musculi* trypanosomes.

En el estudio con diferentes cepas de *T. gondii*, la supervivencia en general fue más elevada, tal y como se esperaba, al rebajar el número de quistes inoculados. La excepción a esta regla fue la cepa TLP, cuya actividad patológica ha sido evidente a través de otras observaciones (datos no publicados). En efecto, todos los animales inoculados murieron antes de 30 días, independientemente de la infección previa o no con el tripanosoma (Fig. 3). Por los datos obtenidos en cuanto a supervivencia no se deduce ninguna diferencia, pero cuando se hizo el análisis de quistes por gramo de cerebro en los supervivientes, se notó que para las tres cepas, los animales del grupo

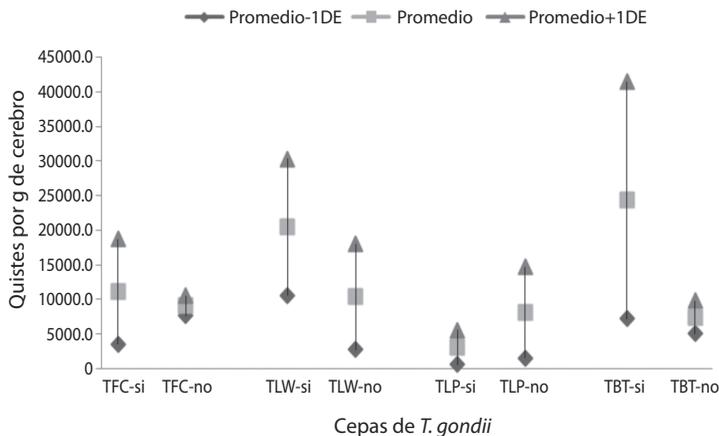
control (no inoculados con *T. muscoli*), siempre presentaron un menor número de quistes (Fig. 4) y las diferencias estadísticas ( $p < 0.011$ ) fueron significativas.

## DISCUSION

Los procesos de inmunosupresión son importantes en el sentido que significan un debilitamiento en las defensas naturales de los seres vivientes, lo que los convierte en terreno fértil para el desarrollo de enfermedades causadas fundamentalmente por virus, bacterias y hongos (Manzano-Alonso & Castellano-Tortajada 2011, Duncan & Wilkes 2005), pero



**Fig. 3.** Supervivencia de ratones infectados con diferentes cepas de *T. gondii* previa inoculación con *T. muscoli*.  
**Fig. 3.** Survival time of mice infected with different strains of *T. gondii* after *T. muscoli* inoculation.



**Fig. 4.** Número de quistes en el cerebro de ratones infectados con diferentes cepas de *T. gondii* con o sin previa infección con *T. muscoli*.

**Fig. 4.** Number of *T. gondii* cysts found in the brain of mice infected with different strains after *T. muscoli* inoculation.

también por parásitos. Dentro de estos últimos, se han observado estos procesos en infecciones de organismos de mayor tamaño como lo son las especies del género *Schistosoma* (Capron & Capron 1986), así como *Strongyloides stercoralis* (Ruano *et al.* 2005, Basile *et al.* 2010, Corti *et al.* 2011) entre otros. Sin embargo, el mayor impacto se observa en parásitos que por su naturaleza intracelular, o su acción directa interna sobre órganos vitales, son profundamente afectados por cualquier alteración en la inmunidad celular, blanco fundamental de la inmunosupresión (Ferreira & Borges 2002, Dedet & Pratlong 2005). Tal es el caso de los tripanosomas del grupo Salivaria (africanos) (Uzonna *et al.* 1998), (*Trypanosoma cruzi* (Kretzli 1977, Szein & Kierszenbaum 1993, Bacal *et al.* 2010), *Leishmania* spp. (Oliveira *et al.* 2008), *Toxoplasma gondii* (Abedalthagafi *et al.* 2009, García *et al.* 2010, Soléne *et al.* 2010) y *Plasmodium falciparum* (Grimwade *et al.* 2004). El ejemplo más llamativo causante de este proceso son las infecciones por VIH (Raju *et al.* 2008, Cruz *et al.* 2006, Otieno *et al.* 2006, Jayawardena *et al.* 2008) en las cuales el curso de la enfermedad es más severo producto del debilitamiento del sistema inmune. En el caso del *T. gondii* cuya manifestación usual es una infección crónica, la infección concomitante con VIH desencadena una toxoplasmosis diseminada, con graves efectos clínicos sobre algunos pacientes (Davarpanah *et al.* 2007, Soléne *et al.* 2010).

Los conocimientos que se puedan aportar al estudio de este fenómeno inmunológico pueden ser de utilidad científica y práctica, en el análisis del proceso y sus consecuencias en el campo médico. En este sentido, el establecimiento de modelos experimentales, aunque no necesariamente extrapolables al modelo humano, representan una ayuda importante para realizar tal análisis. En los estudios previamente realizados usando *T. lewisi* como el organismo capaz de exacerbar las infecciones por *T. gondii* (Guerrero *et al.* 1997, Chinchilla *et al.* 2004) en las ratas blancas, se observan en los animales sobrevivientes lesiones pulmonares muy similares, desde el punto vista patológico, a las

que se producen en los individuos infectados con VIH (Catarinella *et al.* 1998). Datos como estos y otros como la inhibición del interferón gamma durante el proceso (Chinchilla *et al.* 2005) o el efecto que se manifiesta inclusive a nivel celular en macrófagos peritoneales (Catarinella *et al.* 1999, Chinchilla *et al.* 2004) y alveolares (Ríos *et al.* 2009), constituyen información inmunológica básica que eventualmente puede ser importante en la comprensión de estos fenómenos.

Los resultados obtenidos en el modelo expuesto en este estudio, usando también *T. gondii* pero sustituyendo el *T. lewisi* por el *T. duttoni*, parásito de ratones, reflejan un efecto inmunosupresor similar tanto al analizar la supervivencia como al determinar el número de quistes por gramo de cerebro en los animales sobrevivientes. Al igual que en el modelo con ratas (Guerrero *et al.* 1997), en este estudio se nota que el efecto inmunosupresor se manifiesta en forma más clara cuando la infección previa con el tripanosomátido se realiza cuatro días antes, disminuyendo el efecto conforme el tiempo previo es más prolongado. Este efecto probablemente es causado por la inhibición de interferón gamma, muy importante en el bloqueo de las infecciones agudas por *T. gondii* (Zhao *et al.* 2007), así demostrado por el modelo con la rata blanca (Chinchilla *et al.* 2005).

La cantidad de tripanosomas inoculados no parece ser un factor importante en la mayor o menor manifestación del efecto, tal y como se observa en los datos de supervivencia que se presentan en nuestros resultados. El número de quistes de *T. gondii* inoculados en este caso fue un poco más elevado, con el objetivo de observar mejor las diferencias en supervivencia en relación con el control como realmente ocurrió. Además, la observación de que la diferencia en cuanto al número de quistes en el cerebro entre el grupo control y en los pocos animales que sobrevivieron fue bastante marcada, independientemente del inóculo del tripanosoma, nos indica que el factor que induce el efecto está en el parásito o es liberado por éste, y que presenta una actividad tal, que solo necesita la reproducción del mismo durante cuatro días

para ejercer su acción inhibidora. Productos derivados de protozoarios con esta capacidad inmunosupresora han sido encontrados en tripanosomas africanos (Darji *et al.* 1992, 1996), así como para *T. lewisi* (Ndarathi 1991).

El hecho de que en los experimentos con cepas diferentes del *T. gondii*, se observara la inhibición inmunitaria para cualquier cepa, tanto en la supervivencia de los animales como en el número de quistes en el cerebro de los sobrevivientes, confirma que el factor inmunosupresor no es específico, sino que es un proceso inmune generado por el tripanosomátido contra el *T. gondii* a nivel celular como ha sido demostrado en otros estudios (Mabbott *et al.* 1995). En el caso de *T. lewisi* por ejemplo, el efecto fue demostrado también para infecciones en ratas blancas de macrófagos alveolares por *Cryptococcus neoformans* (Gross *et al.* 2006), un organismo muy lejano desde el punto de vista biológico y taxonómico del *T. gondii*.

Este nuevo modelo, aunque similar al de *T. lewisi* ya publicado, tiene la ventaja de que emplea un animal de más fácil manejo, el ratón blanco (*Mus musculus*), en comparación con la rata blanca (*Rattus rattus*). Este aspecto junto con el aporte para una mejor comprensión de algunos procesos inmunológicos, propios de las enfermedades debilitantes del ser humano, es el aporte de este trabajo. Sin embargo, quedan varias dudas en el sentido de determinar si este efecto se puede manifestar también a nivel celular, como se ha demostrado específicamente en macrófagos peritoneales (Catarinella *et al.* 1999, Chinchilla *et al.* 2004) o alveolares (Ríos *et al.* 2009), o el papel de las linfocinas en el proceso. Estudios en ambos sentidos se encuentran en proceso.

En conclusión, este estudio ha aportado los siguientes elementos: 1. La presentación de un modelo de inmunosupresión entre dos parásitos de diferente escala zoológica, uno de ellos *T. gondii* de importancia médica. 2. Datos que podrían contribuir para el mayor conocimiento de los procesos de inmunosupresión producidos por las enfermedades debilitantes y 3. El uso de

un animal de laboratorio, el ratón, de más fácil manejo, en este tipo de estudios inmunológicos.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue realizado con el apoyo del departamento de Investigación de la Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED), del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MICIT) y del Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONCIT). Agradecemos a Laura Valerio, José Bolaños y Edwin Valenciano por el manejo y mantenimiento de los animales de laboratorio y a Juan Carlos Vanegas por el apoyo brindado en los análisis estadísticos y confección de figuras.

## RESUMEN

La prevalencia de infecciones por *Toxoplasma gondii* en el ser humano es de 5-90% según la zona geográfica; en Costa Rica por ejemplo, la seroprevalencia es de un 58%, por lo que es importante comprender algunos procesos inmunológicos, propios en estas afectaciones parasitarias. Con el objeto de determinar si el *Trypanosoma musculi* ejerce procesos de inmunosupresión sobre *Toxoplasma gondii* se realizó un experimento en el que se inocularon ratones Swiss con *T. musculi* cuatro, cinco, seis y siete días previos a la infección con *T. gondii*, ocurriendo la inmunosupresión cuando la inoculación con *T. musculi* fue hecha cuatro días antes. Además, la cantidad de tripomastigotos inoculados no influyó en el proceso. Se probaron tres cepas de *T. gondii* aisladas de las heces de un gato casero (TFC), de un *Leopardus pardalis* (TLP), de un *Leopardus wiedii* y de la carne de un *Bos taurus* (TBT). La cepa TLP resultó ser muy patógena, matando a los animales en un tiempo corto, independientemente de la inoculación con *T. musculi*; para las otras cepas se mantuvo el patrón de inmunosupresión en los ratones. Se reporta entonces un modelo experimental de inmunosupresión, aspecto muy en boga en este momento, por su relación con enfermedades que inducen esta condición en el ser humano, especialmente a enfermedades como el cáncer y el SIDA. Este modelo es más fácil de aplicar experimentalmente que el correspondiente con *T. lewisi* previamente descrito, el cual usa ratas blancas de más difícil manejo que los ratones usados en este estudio.

**Palabras clave:** *Toxoplasma gondii*, inmunosupresión, *Trypanosoma musculi*, modelo experimental, inmunidad.

## REFERENCIAS

- Abedalthagafi, M.E., J. Rushing, D. Garvin, B. Cheson & M. Ozdemirli. 2009. Asymptomatic diffuse "encephalitic" cerebral toxoplasmosis in a patient with chronic lymphocytic leukemia: case report and review of the literature. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 3: 106-109.
- Albright, J.W. & J.F. Albright. 1991. Rodent trypanosomes: their conflict with the immune system of the host. *Parasitol. Today* 7: 137-140.
- Bacal, F., C.P. Silva, P.V. Pires, S. Mangini, A.I. Fiorelli, N.G. Stolf & E.A. Bocchi. 2010. Transplantation for Chagas disease: an overview of immunosuppression and reactivation in the last two decades. *Clin. Transplant.* 24: E29-E34.
- Basile, A., S. Simzar, J. Bentow, F. Antelo, P. Shitabata, S.K. Peng & N. Craft. 2010. Disseminated *Strongyloides stercoralis*: hyperinfection during medical immunosuppression. *J. Am. Acad. Dermatol.* 63: 896-902.
- Bojar, I. & J. Szymanska. 2010. Environmental exposure of pregnant women to infection with *Toxoplasma gondii*- state of the art. *Ann. Agric. Environ. Med.* 17:209-214.
- Capron, M. & A. Capron. 1986. Rats, mice and men models for immune effectors mechanisms against schistosomiasis. *Parasitol. Today* 2: 69-75.
- Catarinella, G., M. Chinchilla, O.M. Guerrero & E. Abraham. 1998. Effect of *Trypanosoma lewisi* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) on the infection of white rats with *Toxoplasma gondii* (Eucoccidia: Sarcocystidae) oocysts. *Rev. Biol. Trop.* 46: 1121-1123.
- Catarinella, G., M. Chinchilla, O.M. Guerrero & A. Castro. 1999. Infection of white rats peritoneal macrophages with *Toxoplasma gondii* (Coccidia: Sarcocystidae) after *Trypanosoma lewisi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) infection. *Rev. Biol. Trop.* 47: 483-488.
- Chinchilla, M., M. Alfaro & O.M. Guerrero. 1981. Adaptación natural de rata blanca a *Toxoplasma gondii*. *Rev. Biol. Trop.* 29: 273-282.
- Chinchilla, M., O.M. Guerrero & A. Castro. 2004. Effect of *Trypanosoma lewisi* infection on the *Toxoplasma gondii* multiplication in white rat peritoneal macrophages. *Parasitol. Latinoam.* 59: 3-7.
- Chinchilla, M., O.M. Guerrero & E. Solano. 1982. Lack of multiplication of *Toxoplasma* in macrophages of rats in vitro. *J. Parasitol.* 68: 952-955.
- Chinchilla M., O. M. Guerrero & E. Valenciano. 1985. Efecto de los corticosteroides sobre la adaptación natural de la rata blanca al *Toxoplasma*. *Rev. Cost. Cienc. Méd.* 6: 113-118.
- Chinchilla, M., L. Reyes, O.M. Guerrero-Bermúdez & A. Castro. 2005. Role of interferon  $\gamma$  on the immunosuppression during *Toxoplasma gondii* infection by *Trypanosoma lewisi*. *Parasitol. Latinoam.* 60: 54-56.
- Corti, M., M.F. Villafañe, N. Trione, D. Risso, J.C. Abuin & O. Palmieri. 2011. Infección por *Strongyloides stercoralis*: estudio epidemiológico, clínico, diagnóstico y terapéutico en 30 pacientes. *Rev. Chil. Inf.* 28: 217-222.
- Cruz, I., J. Nieto, J. Moreno, C. Cañavate, P. Desjeux & J. Alvar. 2006. *Leishmania*/HIV co-infections in the second decade. *Ind. J. Med. Res.* 123: 357-388.
- Da Silva, R.C., A.V. Da Silva & H. Langoni. 2010. Recrudescence of *Toxoplasma gondii* infection in chronically infected rats (*Rattus norvegicus*). *Exp. Parasitol.* 125: 409-412.
- Da Silva, A., G. Vilar, A. Santos, R. Rodrigues, M. Santos & J. Lannes-Vieira. 2010. *Trypanosoma cruzi*-Induced Central Nervous System Alterations: From the Entry of Inflammatory Cells to Potential Cognitive and Psychiatric Abnormalities. *J. Neuroparasitol.* 1: 1-13.
- Darji, A., A. Beschin, M. Sileghem, H. Heremans, L. Brys & P. de Baetselier. 1996. In vitro stimulation of immunosuppression caused by *Trypanosoma brucei*: active involvement of gamma interferon and tumor necrosis factor in the pathway of suppression. *Inf. Immun.* 64: 1937-1943.
- Darji, A., R. Lucas, E. Magez, J. Torreele, M. Palacios, E. Sileghem, S. Bajyana, R. Hamers & P. De Baetselier. 1992. Mechanisms underlying trypanosome elicited-immunosuppression. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.* 72: 27-38.
- Davarpanah, M.A., D. Mehrabani, R. Neirami, M. Ghahremanpoori & M. Darvishi. 2007. Toxoplasmosis in HIV/AIDS patients in Shiraz, southern Iran. *Iran. Red Crescent Med. J.* 9: 22-27.
- Dedet, J.P. & F. Pratloug. 2005. *Leishmania*, *Trypanosoma* and Monoxenous Trypanosomatids as Emerging Opportunistic Agents. *J. Euk. Microbiol.* 47: 37-39.
- Dubey, J.P. & J.L. Jones. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int. J. Parasitol.* 38: 1257-1278.
- Duncan, M.D. & D.S. Wilkes. 2005. Transplant-related Immunosuppression. A Review of Immunosuppression and Pulmonary Infections. *Proc. Am. Thor. Soc.* 2: 449-455.
- Elmore, S.A., J.L. Jones, P.A. Conrad, S. Patton, D.S. Lindsay & J.P. Dubey. 2010. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects and prevention. *Trends Parasitol.* 26: 190-196.

- Fazzani, C., P.A. Guedes, A. Senna, E.B. Souza, H. Goto & J.A.L. Lindoso. 2011. Dynamics of immunosuppression in hamsters with experimental visceral leishmaniasis. *Braz. J. Med. Biol.* 44: 666-670.
- Ferreira, M.S. & A.S. Borges. 2002. Some Aspects of Protozoan Infections in Immunocompromised Patients - A Review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97: 443-457.
- García de la Fuente, I., M. Ansari, A.L. Rougemont, R.J. Passweg, F. Gumy-Pause, H. Ozsahin, J. Lobrinus & K. Posfay-Barbe. 2010. Acute Disseminated Fatal Toxoplasmosis After Haploidentical Stem Cell Transplantation Despite Atovaquone Prophylaxis in A Young Man. *Ped. Inf. Dis. J.* 29: 1059-1060.
- Guerrero-Bermudez, O.M., M. Chinchilla-Carmona & A. Castro-Castillo. 1995. Age influence in the natural resistance of white rat and mice to the protozoan *Toxoplasma gondii*. *Rev. Biol. Trop.* 43: 1-3.
- Guerrero, O.M., M. Chinchilla & E. Abrahams. 1997. Increasing of *Toxoplasma gondii* (Coccidia, Sarcocystidae) infections by *Trypanosoma lewisi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in white rats. *Rev. Biol. Trop.* 45: 877-882.
- Grimwade, K., N. French, D.D. Mbatha, D.D. Zungu, M. Dedicoat & C.F. Gilks. 2004. HIV infection as a cofactor for severe falciparum malaria in adults living in a region of unstable malaria transmission in South Africa. *AIDS* 2018: 547-554.
- Gross, N., O.M. Guerrero, M. Chinchilla & C. Jarstrand-Hall. 2006. *Trypanosoma lewisi*-induced immunosuppression: The effects on alveolar macrophages activities against *Cryptococcus neoformans*. *Exp. Parasitol.* 113: 262-266.
- Holland, G.N. 2003. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. *Am. J. Ophthalmol.* 136: 973-88.
- Holst, I. & M. Chinchilla. 1990. Development and distribution of cysts of an virulent strain of *Toxoplasma* and the humoral immune response in mice. *Rev. Biol. Trop.* 38: 189-93.
- Jayawardena, S., S. Singh, O. Burzyantseva & H. Clarke. 2008. Cerebral Toxoplasmosis in Adult Patients with HIV Infection, p. 17-24. In M.A. Perazella (ed.). Resident Grand Rounds. Series.
- Kaňková, Š., V. Holáň, A. Zajícová, P. Kodým & J. Fleg. 2010. Modulation of immunity in mice with latent toxoplasmosis –the experimental support for the immunosuppression hypothesis of *Toxoplasma*-induced changes in reproduction of mice and humans. *Parasitol. Res.* 107: 1421-142.
- Krettli, A.U. 1977. Exacerbation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection in mice by concomitant malaria. *J. Protozool.* 24: 514-518.
- Mabbott, N.A., I.A. Sutherland & J.M. Sternberg. 1995. Suppressor macrophages in *Trypanosoma brucei* infection: nitric oxide is related to both suppressive activity and lifespan in vivo. *Parasite Immunol.* 17: 143-50.
- Manzano-Alonso, M.L. & G. Castellano-Tortajada. 2011. Reactivation of hepatitis B virus infection after cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy. *World J. Gastroenterology* 17: 1531-1537.
- Ndarathi, C.M. 1991. Suppressor and protector factors derived from *Trypanosoma lewisi*. *Int. J. Parasitol.* 21: 736-69.
- Oliveira, R.A., L.S.V. Silva, V.P. Carvalho, A.F. Coutinho, F.G. Pinheiro, C.G. Lima, J.E. Leandro Jr, G.B. Silva Jr. & E.F. Daher. 2008. Visceral leishmaniasis after renal transplantation: report of 4 cases in northeastern Brazil. *Transplant. Inf. Dis.* 10: 364-368.
- Otieno, R.O., C. Ouma, J.M. Ongecha, C. Keller, T. Were, E.N. Waindi, M. Michaels, R.D. Day, J.M. Vulule, D.J. Perkins & J. Douglas. 2006. Increased severe anemia in HIV-1-exposed and HIV-1-positive infants and children during acute malaria. *AIDS* 20: 275-280.
- Raju, R.G., F.E. Chaudhary, F.E. Bilimoria & S.K. Katare. 2008. Diffuse cutaneous leishmaniasis: Co-infection with human immunodeficiency virus (HIV) Ind. J. Dermatol. Venereol. Leprol. 74: 641-643.
- Ríos-Carrera, N.J., M. Chinchilla, O.M. Guerrero & A. Castro. 2009. Efecto inmunosupresor de *Trypanosoma lewisi* (Kinetoplastidae) sobre la multiplicación de *Toxoplasma gondii* (Sarcocystidae) en macrófagos alveolares y peritoneales de rata blanca. *Rev. Biol. Trop.* 57: 13-22.
- Ruano, A.L., T. Martín, J. Pardo, J. López-Albán & A. Muro. 2005. Avances en el estudio de la estrogiloidosis. *Enf. Emerg.* 7: 102-109.
- Siteo, S.P.B.L., B. Rafael, L.R. Meireles, H.F. de Andrade Jr. & R. Thompson. 2010. Preliminary report of HIV and *Toxoplasma gondii* occurrence in pregnant women from Mozambique. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 52: 291-295.
- Solène, P.D., J.P. Gangneux, S. Lavoué, B. Lelong, C. Guiguen, Y. le Tulzo & F.R. Gangneux. 2010. Correlation of Parasite Load Determined by Quantitative PCR to Clinical Outcome in a Heart Transplant Patient with Disseminated Toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 48: 2541-2545.

- Sztejn, M.B. & F. Kierszenbaum. 1993. Mechanisms of development of immunosuppression during *Trypanosoma* infections. *Parasitol. Today* 9: 424-428.
- Uzonna, J.E., S.R. Kaushik, Y. Zhang, J.R. Gordon & H. Tabel. 1998. Experimental murine *Trypanosoma congolense* infections. II. Role of splenic adherent CD3<sup>+</sup>Thy1.2<sup>+</sup> TCR- $\alpha\beta\gamma\delta$ <sup>-</sup> CD4<sup>+</sup>8<sup>-</sup> and CD3<sup>+</sup>Thy1.2<sup>+</sup>TCR- $\alpha\beta\gamma\delta$ <sup>-</sup> CD4<sup>+</sup>8<sup>-</sup> cells in the production of IL-4, IL-10, and IFN- $\gamma$  and in Trypanosome-elicited Immunosuppression. *J. Immunol.* 161: 6189-6197.
- Viens, P.G., A.T. Targett, E. Leuchar & A.J.S. Davies. 1974. The immunological response of CBA mice to *Trypanosoma musculi*. Initial control of the infection and the effect of t-cell deprivation. *Clin. Exp. Immunol.* 16: 279-294.
- Zapata, M., L. Reyes & I. Holst. 2005. Disminución en la prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en adultos del valle central de Costa Rica. *Parasitol. Latinoam.* 60: 32-37.
- Zhao, Y., D. Wilson, S. Matthews & G.S. Yap. 2007. Rapid Elimination of *Toxoplasma gondii* by Gamma Interferon-Primed Mouse Macrophages is Independent of CD40 Signaling. *Infect. Immun.* 75: 4799-4803.