



Sociedad Argentina de Protozoología
XXVII Reunión Anual
15 al 17 de Noviembre de 2015
Museo Argentino de Ciencias Naturales
Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Libro de Resúmenes



SAP 2015



**XXVII Reunión Anual
Museo Argentino de
Ciencias Naturales**

**XXVII Reunión Anual
Sociedad Argentina de Protozoología**
15 al 17 de Noviembre de 2015
Museo Argentino de Ciencias Naturales
Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Comité organizador:

Presidente: Guillermo Alonso

Gabriela García

Karina Gómez

Silvia Longhi

Alejandro Schijman

Silvina Wilkowsky

Comisión directiva:

Presidente: Alejandro Schijman

Vice-presidente: Silvina Wilkowsky

Tesorero: Guillermo Alonso

Secretaria: Gabriela García

Pro-tesorera: Silvia Fernández Villamil

Pro-secretaria: Karina Gómez

Vocales: Silvia Longhi y Alejandra Schoijet

Vocal suplente: Sergio Guerrero

Comité científico:

Presidente: Jacqueline Bua

Miembros: Vanina Alvarez, Victoria Cardinal, Fernanda Frank, Juan Mucci, Claudio Pereira, Adelina Riarte, Mara Rosenvitz, Soledad Santini, María Elisa Solanas

Colaboradores: Sergio Angel, Susana Laucella y Daniel Salomón

Diseño: Claudia Nose

Pintura portada: Claudia Nose, "Caminito", tintas y acuarela sobre tela.

CONICET



FONCYT



FUNDACIÓN BUNGE Y BORN

DNDi

Drugs for Neglected Diseases *initiative*



Mundo Sano



GE Healthcare

DIAGNOS MED S.R.L.



 full spectrum cell analysis®
eBioscience
www.ebioscience.com
Immunology- Cell Biology
Cancer Biology-Stem Cell Biology

 **BioSource**.com
Antibody - Protein - ELISA Kit
www.mybiosource.com

**BioVision**
BioVision Incorporated
www.biovision.com
Apoptosis-Enzyme Inhibitors-
Signaling Transduction-Cytokines

 **BioAssay Systems**
Solutions for Research and Analysis
www.bioassaysys.com

www.diagnosmed.com // promocion2@diagnosmed.com // Info@diagnosmed.com // Tel (011)4552-2929

MIGLIORELA CLAUSTRA

Soluciones tecnológicas para la investigación básica en ciencias biológicas

La Fundación Bunge y Born financió la estadía en Buenos Aires de los siguientes invitados a la XXVII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología:

Henrique Ferreira (Brasil)

Uriel Koziol (Uruguay)

Antonio Marcilla (España)

Paul Michels (Reino Unido)

Programa

Domingo 15 Noviembre Aula Magna	
desde 14.00 hs.	Acreditaciones
15.00-19.00 hs	<i>Simposio (S1-S8): Tratamiento para la enfermedad de Chagas: desafíos y progresos. Coordinadores: María Elisa Solana / Adelina Riarte. Presentadora: Isabela Ribeiro</i>
15.00–15.20 hs	<i>(S1) Juan Carlos Villar (Universidad Bucaramanga, Colombia): “Hay medicina basada en evidencia para la enfermedad de Chagas?”</i>
15.20 -15.40 hs	<i>(S2) Eder Romero (Universidad de Quilmes, Bs.As.): “Nanomedicinas en la enfermedad de Chagas: una perspectiva realista”</i>
15.40 -16.00 hs	<i>(S3) Jaime Altchek (Hospital Ricardo Gutiérrez, CABA): “Avances en el conocimiento de drogas utilizadas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas”</i>
16.00- 16.20 hs	<i>(S4) Laura Fichera (INP “Fatala Chaben”, CABA): “Estudios Preclínicos con drogas tripanocidas. Recomendaciones de la Reunión Nacional 2015”</i>
16.30-17.00 hs.	<i>Intervalo</i>
17.00- 17.20 hs	<i>(S5) Nilda Prado (INP “Fatala Chaben”, CABA): “Estudio TRAENA: Un ensayo clínico aleatorizado de Benznidazol versus placebo en pacientes adultos con enfermedad de Chagas crónica”.</i>
17.20- 17.40 hs	<i>(S6) Carlos Morillo (McMaster University, Hamilton, Canadá): “Estudio BENEFIT, Hallazgos e Implicaciones en la Práctica Clínica”</i>
17.40- 18.00 hs	<i>(S7) Alejandro Schijman (INGEBI-CONICET, CABA): “Utilización de PCR en tiempo real como marcador indirecto de respuesta terapéutica.”</i>
18.00- 18.20 hs	<i>(S8) Isabela Ribeiro (Drugs for Neglected Disease initiative, Geneva - Rio de Janeiro, Brasil): “Nuevos esquemas terapéuticos de Benznidazol y Nifurtimox – evidencias actuales y estudios planeados”</i>
18.20- 19.00 hs	Isabela Ribeiro Discusión de todas las ponencias Cierre y Recomendaciones: “ Hacia una nueva era en el tratamiento de la Enfermedad de Chagas ”
19.00-19.30 hs	Inauguración XXVII Reunión Anual de la SAP
19.30-20.30 hs	Conferencia inaugural (C1): Juan Jose Cazzulo (IIB-INTECH, UNSAM, Bs. As.): “Estudios de la Bioquímica del <i>Trypanosoma cruzi</i> en busca de blancos para el desarrollo de drogas tripanocidas”. Presentador: Guillermo Alonso
20.30-22.00 hs	<i>Cocktail de bienvenida</i>

Lunes 16 Noviembre		
Aula Magna		Aula 1º piso
8.30-9.00 hs	Acreditación	
9.00-10.00 hs	<p style="text-align: center;"><i>Comunicaciones orales (CO1)</i></p> <p>Jonathan Múnera López (IIB-INTECH): “Toxoplasma gondii TGJ1 (Type I HSP40) relocalizes to parasite pellicle during gliding”.</p> <p>Gonzalo Greif (Instituto Pasteur, Montevideo, Uruguay): “Adaptación de <i>Trypanosoma vivax</i> americano a la transmisión mecánica: remodelación del kinetoplasto”.</p> <p>Santiago R Chávez García (UdelaR, Montevideo, Uruguay): “Análisis de perfiles de expresión génica global en el ciclo celular de <i>Trypanosoma cruzi</i>”.</p>	<p style="text-align: center;"><i>Comunicaciones orales (CO2)</i></p> <p>Georgina Fronza (CONICET-CITEDEF): “Estado actual de la resistencia a insecticidas piretroides en <i>Triatoma infestans</i> (Reduviidae: Triatominae) de diferentes provincias argentinas”.</p> <p>María L Marin (FCV, UNLP, Buenos Aires): “Leishmaniosis canina: estudio diagnóstico transversal en perros de área endémica de la provincia de Misiones, Argentina”.</p> <p>Mónica C García (UNITEFA-CONICET, Universidad Nacional de Córdoba): “Efecto sinérgico anti-<i>Trypanosoma cruzi</i> de benznidazol combinado con clomipramina”.</p> <p>Luján Scalise (INP Dr. M. Fatała Chaben) CABA: “Tratamiento intermitente de benznidazol combinado con alopurinol en la infección crónica murina por <i>T. cruzi</i> Nicaragua (TcN)”.</p>
10.00-10.30 hs	Café	
10.30–12.30hs	<p style="text-align: center;"><i>Mesas redondas (MR1)</i></p> <p>SEÑALIZACIÓN A TRAVÉS DE MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES DE PROTEÍNAS EN TRYPANOSOMÁTIDOS</p> <p>Coordinadores: Claudio Pereira - Vanina Alvarez</p> <p>MR1.1 Esteban Serra (IBR-CONICET, Universidad Nacional de Rosario) “Acetilación, una modificación post-transcripcional que influye en la infectividad de <i>Trypanosoma cruzi</i>”</p> <p>MR1.2 Vanina Campos (IIB-INTECH, UNSAM, Bs. As.): “La inhibición y activación de la actividad de la histona deacetilasa de <i>Trypanosoma cruzi</i> afecta la replicación, diferenciación, infectividad</p>	<p style="text-align: center;"><i>Mesas redondas (MR2)</i></p> <p>EPIDEMIOLOGÍA DE ENFERMEDADES VECTORIALES</p> <p>Coordinadora: Soledad Santini</p> <p>MR2.1 Juan Rosa (Universidad Nacional del Nordeste, Provincia de Chaco): “Eco-epidemiología de Flebótomos”</p> <p>MR2.2 Gerardo Marti (Centro de Estudios Parasitol. y de Vectores, UNLP Bs. As.): “Epidemiología y Control de triatominos”</p> <p>MR2.3 Sol Gaspe (Instituto de Ecología, Genética y Evolución, UBA, CABA): “Enfoque eco-bio -social de infestación por <i>Triatoma infestans</i>”</p>

Lunes 16 de noviembre

	<p>y expresión génica.”</p> <p>MR1.3 Silvia Villamil (INGEBI-CONICET, CABA): “Poly(ADP-ribosa) como señal de muerte celular en tripanosomas”</p> <p>MR1.4 Carla Cristi Del Campo Avila (University of Cambridge - Universidade Federal de São Paulo): “The role of translation initiation factor eIF2A in <i>Trypanosoma brucei</i> life cycle”</p>	<p>MR2.4 Anibal E. Carbajo (Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, UNSAM, Bs As.): “Mapas de riesgo y distribución de especies”.</p>
12.30 – 14.00hs	<i>Almuerzo</i>	
14.00 – 15.00hs	<p style="text-align: center;">Conferencia (C2)</p> <p>Oscar Competella (IIB-INTECH, UNSAM, Bs. As.): “Alteraciones inducidas en el hospedador por la <i>trans</i>-sialidasa de <i>Trypanosoma cruzi</i>” Presentador: Juan Mucci</p>	<p style="text-align: center;">Conferencia (C3)*</p> <p>Antonio Marcilla (Universidad de Valencia, España): “Vesículas Extracelulares en Parásitos” Presentadora: Mara Rosenzvit</p>
15.00 – 16.00hs	<p style="text-align: center;">Comunicaciones orales (CO3)</p> <p>Lucas Caeiro (IIB-INTECH, UNSAM CONICET): “Las proteínas de superficie TCTASV-C de tripomastigotes de <i>Trypanosoma cruzi</i> se secretan mayoritariamente en vesículas pequeñas”.</p> <p>Marianela C. Serradell (Universidad Católica de Córdoba): “Activation of dendritic cells by Giardia Variant-Specific Surface Proteins (VSP) and VSP-pseudotyped virus-like particles”.</p> <p>Roxana C Cano (Universidad Católica de Córdoba): “<i>Trypanosoma cruzi</i> potencia la polarización alternativa de macrófagos en tejido adiposo visceral y favorece la progresión a diabetes en ratones obesos”.</p>	<p style="text-align: center;">Comunicaciones orales (CO4)*</p> <p>Ana Maite Folle (UdelaR, Montevideo, Uruguay): “El antígeno B de <i>Echinococcus granulosus</i>: una proteína de unión a lípidos en la interfaz hospedero-parásito”.</p> <p>María E Ancarola (IMPAM, UBA): “Análisis de la secreción de vesículas extracelulares en <i>Mesocestoides corti</i>”.</p> <p>Gustavo Mourglia Ettlin (UdelaR, Montevideo, Uruguay): “Antibody-dependent cellular cytotoxicity mechanisms: role in BALB/c and C57BL/6 mice differential susceptibility to <i>Echinococcus granulosus</i> infection”.</p> <p>Patricia Pensel (Universidad Nacional de Mar del Plata): “Estudio <i>in vivo</i> de la actividad antihelmintica de nanocristales de albendazole sobre el estadio larval de <i>Echinococcus multilocularis</i>”.</p>

Lunes 16 de noviembre

Lunes 16 de noviembre		
16.00 – 18.00 hs	<p><i>Mesas redondas (MR3)</i></p> <p>APECTOS DE LA RELACIÓN PARÁSITO – HUÉSPED Coordinador: Juan Mucci MR3.1 Fabiola Parussini (Centro de Investigaciones y Transferencia, Jujuy): “Estudios funcionales de proteasas y sus substratos durante el proceso de invasión de las células huésped por <i>Toxoplasma gondii</i>.”</p> <p>MR3.2 Ivan Marcipar (Universidad del Litoral, Santa Fe): “Eficacia de una vacuna experimental de subunidades proteicas para lograr protección contra la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i>”</p> <p>MR3.3 Natalia De Miguel (IIB-INTECH, Chascomús, Bs As.): “Exosomas: nuevos mensajeros involucrados en la patogénesis de <i>Trichomonas vaginalis</i>”</p> <p>MR3.4 Morten Nilsen (Technical University of Denmark - IIB-INTECH, UNSAM, Bs. As.): “The use of in-silico tools as a guide for rational T cell epitope discovery; lessons learned from large data sets”</p>	<p><i>Mesas redondas (MR4)*</i></p> <p>BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR DE PARÁSITOS HELMINTOS: CLAVES PARA COMPRENDER SU BIOLOGÍA Y POTENCIALES APLICACIONES AL CONTROL Coordinadores: Henrique Ferreira y Mara Rosenzvit</p> <p>MR4.1 Dr. Henrique Ferreira (Universidad Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil): “Estudios proteómicos comparativos y funcionales de <i>Echinococcus spp</i>”</p> <p>MR4.2 Uriel Koziol (Univ. de la República, Montevideo, Uruguay): “Las células madre del cestodo <i>Echinococcus multilocularis</i>, un parásito inmortal”</p> <p>MR4.3 Laura Kamenetzky (Facultad de Medicina, UBA, CABA): “Nuevo genoma de una especie desatendida causante de hidatidosis quística: <i>Echinococcus canadensis</i>”</p> <p>MR4.4 Gisela Franchini (INBIOLP, UNLP, Bs As.): “Proteínas nuevas que unen lípidos de Nematodes Parásitos. Caracterización estructural y evaluación como blancos terapéuticos y diagnósticos.</p>
18.00 – 20.00 hs	Posters (1º piso) *	
20.00 – 21.00 hs	Asamblea Anual SAP	

***TALLER:**

PARÁSITOS HELMINTOS: NUEVOS CONOCIMIENTOS Y POSIBLES APLICACIONES AL CONTROL: incluye Conferencia 3 (C3), Comunicaciones Orales 4 (CO4), Mesa Redonda 4 (MR4), Posters del área.

Martes 17 de Noviembre		
Aula Magna		Aula 1º piso
8.30-9.00 hs	Acreditación	
9.00-10.00 hs	<p style="text-align: center;"><i>Comunicaciones orales (CO5)</i></p> <p>Jean-Yves Brossas (Université Pierre et Marie Curie, Paris, Francia): “Comparative secretome analysis of two <i>Trypanosoma cruzi</i> strains during the emergence of trypomastigotes from cells”.</p> <p>Paola Vacchina (IBR-CONICET): “<i>Trypanosoma cruzi</i> protein lipoilation pattern is modified by the lipoate biosynthesis/salvage inhibitor 8-bromo-octanoate and its methyl derivative”.</p> <p>María D Piñeyro (Instituto Pasteur, Montevideo, Uruguay): “Interactoma redox de <i>Trypanosoma cruzi</i>: el papel de las triparredoxinas”.</p>	<p style="text-align: center;"><i>Comunicaciones orales (CO6)</i></p> <p>Rocío Rivero (INP “Fatala Chaben”, CABA): “Comparación de nuevos métodos de amplificación isotérmica de ADN (LAMP y RPA-LF) para el diagnóstico de la infección congénita por <i>Trypanosoma cruzi</i>”.</p> <p>María A. Serjan (Hospital Fernández, CABA): “Formulación magistral de benznidazol: tratamiento en Chagas congénito”.</p> <p>Constanza López Albizu (INP “Fatala Chaben”, CABA): “Transferencia de estrategias moleculares para el diagnóstico de chagas congénito al sistema sanitario público nacional: ensayo de implementación”.</p> <p>Romina Volcovich (Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, CABA): “Diagnóstico de Chagas congénito: ¿podemos mejorar el algoritmo de trabajo?”.</p>
10.00-10.30 hs	Café	
10.30–12.30hs	<p style="text-align: center;"><i>Mesas redondas (MR5)</i></p> <p>IDENTIFICACIÓN DE POTENCIALES BLANCOS TERAPÉUTICOS Y TAMIZAJE DE DROGAS</p> <p>Coordinadores: Vanina Alvarez - Claudio Pereira</p> <p>MR5.1 Emir Salas (Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba) : “Estrategia para la identificación confiable de inhibidores de unión fuerte para proteasas mediante la combinación de ensayos enzimáticos y ensayos de interacción: Compuestos sintéticos vs. extractos naturales.”</p> <p>MR5.2 Alan Talevi (UNLP, Bs As.): “Importancia del reposicionamiento de fármacos para el desarrollo de terapias innovadoras para enfermedades</p>	<p style="text-align: center;"><i>Mesas redondas (MR6)</i></p> <p>TRANSMISION MATERNO INFANTIL DEL <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i></p> <p>Coordinador: Sergio Sosa Estani</p> <p>MR6.1 Margarita Bisio (Hospital Gutiérrez, CABA): “Búsqueda de marcadores tempranos en el diagnóstico de Chagas congénito”</p> <p>MR6.2 Ines Zulantay Alfaro (Facultad de Medicina, Universidad de Chile): “Diagnóstico de la infección congénita por <i>Trypanosoma cruzi</i> en Chile. Esfuerzos consolidados y desafíos pendientes.”</p> <p>MR6.3 Bibiana Volta ((INP “Fatala Chaben”, CABA): “Diagnóstico y Perfil Inmunológico de neonatos con infección congénita: su relación con la carga parasitaria”</p>

Martes 17 de noviembre

	<p>tropicales”</p> <p>MR5.3 Rodrigo Lopez Muñoz (Universidad Austral, Chile): “Metabolismo de tripanotión y poliaminas como potencial blanco terapéutico contra la enfermedad de chagas”</p> <p>MR5.4 José R. Sotelo-Silveira (Inst. Invest. Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay): “Estudios de Traducción por “ribosome profiling” en <i>Trypanosoma cruzi</i>”</p>	<p>MR6.4 Diana Fabbro (Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.: “Tratamiento tripanocida en mujeres y prevención de Chagas congenito”</p>
12.30 – 14.00hs	Almuerzo	
14.00 – 15.00hs	<p style="text-align: center;">Conferencia (C4)</p> <p>Paul A. Michels (Universidad de Edimburgo. Reino Unido): “Peculiarities of autophagy and autophagy-related proteins in Trypanosomatids”. Presentador: Juan Jose Cazzulo</p>	<p style="text-align: center;">Conferencia (C5)</p> <p>Oscar Daniel Salomon (Inst. Nac. de Medicina Tropical, Puerto Iguazú, Misiones): “Eco-epidemiología o ecología+epidemiología: leishmaniasis en Argentina” Presentador: Sergio Sosa Estani</p>
15.00 – 16.00hs	<p style="text-align: center;">Comunicaciones orales (CO7)</p> <p>Melisa D. Castro Eiro (INP “Fátala Chaben”, CABA): “Evaluación de la respuesta celular hacia <i>Trypanosoma cruzi</i> en pacientes con serología discordante”.</p> <p>José M. Jaramillo Ortiz (INTA, Castelar, Bs. As.): “Estrategias de inmunización “prime – boost” en ratones combinando vectores virales no replicativos que expresan un multiantígeno contra <i>Babesia bovis</i>”.</p> <p>Alejandra L Báez (Universidad Nacional de Córdoba): “Mitocondrias de músculo esquelético y fracción linfomonocitaria como marcadores de daño miocárdico en la enfermedad de Chagas”.</p>	<p style="text-align: center;">Comunicaciones orales (CO8)</p> <p>Virginia Balouz (IIB-UNSAM) “Evaluación de TSSA como marcador de efectividad en el tratamiento contra la enfermedad de Chagas”.</p> <p>Luz Peverengo (Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe): “Desarrollo de un nuevo antígeno multiepitope para optimizar el diagnóstico de Chagas”.</p> <p>Juan C Ramírez (INGEBI) CONICET, CABA: “Programa de control de calidad externo para el monitoreo por PCR en tiempo real en ensayos clínicos de la enfermedad de Chagas”.</p> <p>María L Bizai (FBCB-UNL, Santa Fe): “Infecciones únicas y múltiples por <i>Trypanosoma cruzi</i> y su asociación con los antecedentes epidemiológicos”.</p>

Martes 17 de noviembre

<p>16.00 – 18.00 hs</p>	<p align="center">Mesas redondas (MR7)</p> <p>MODULACION DE LA RESPUESTA INMUNE EN ENFERMEDADES PARASITARIAS Coordinadora: Fernanda Frank</p> <p>MR7.1 Nora Goren (IMPAM, UBA-CONICET, CABA): “Ligandos PPARγ: papel en la polarización de macrófagos y la respuesta angiogénica cardíaca en un modelo murino de infección con <i>Trypanosoma cruzi</i>”</p> <p>MR7.2 María Cecilia Albareda (INP "Dr. M Falata Chaben", CABA): “Impacto del tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas en la respuesta inmune humoral y celular en niños en etapas tempranas de la enfermedad de Chagas crónica”</p> <p>MR7.3 Karina A. Gómez (INGEBI-CONICET, CABA): “Galectina-1 protege a la célula cardíaca de la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i>”</p> <p>MR7.4 Alejandra Goldman (CESyMA, UNSAM, Bs As.): “<i>Toxoplasma gondii</i> y modulación de la susceptibilidad a desarrollar inflamaciones alérgicas pulmonares”.</p>	<p align="center">Mesas redondas (MR8)</p> <p>EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE PROTOZOARIOS. Coordinadora: M. Victoria Cardinal</p> <p>MR8.1 Valeria del Coco (Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, Bs As.): “El ganado vacuno como reservorio zoonótico de <i>Cryptosporidium</i> y <i>Enterocytozoon bieneusi</i>”</p> <p>MR8.2 Paula Ruybal (IMPAM, UBA-CONICET, CABA): “Genes candidatos para la tipificación molecular de <i>Leishmania</i> spp.”</p> <p>MR8.3 María Cecilia Venturini (UNLP, Bs. As.): “Relación de los genotipos de <i>Toxoplasma gondii</i> aislados en Argentina con la salud animal y salud pública.”</p> <p>MR8.4 Leonhard Schnittger (INTA Castelar, Bs As.): “Epidemiologic dynamics of <i>Babesia bovis</i> and <i>Babesia bigemina</i>-infection of bovines and water buffaloes raised jointly in hyperendemic fields”.</p>
<p>18.00 -19.00hs</p>	<p align="center">Conferencia de cierre (C6) - (Aula Magna)</p> <p>Stella Maris Gonzalez Cappa (IMPAM, UBA-CONICET, CABA) “Medicina traslacional ¿factible o deseable?. Experiencia de un laboratorio de Investigación en Parasitología.” Presentadora: Jacqueline Bua</p>	
<p>19.00 -20.45 hs</p>	<p align="center">Posters (1º piso)</p>	
<p>20.45 hs</p>	<p align="center">Entrega de Premios / Clausura</p>	

Cronograma

Domingo 15 Noviembre		Lunes 16 Noviembre		Martes 17 Noviembre	
Aula Magna	Aula Magna	Aula Magna	Aula 1º piso	Aula Magna	Aula 1º piso
	8.30-9.00 hs	8.30-9.00 hs	Acreditación	8.30-9.00 hs	Acreditación
desde 14.00	9.00-10.00 hs	9.00-10.00 hs	Comunicaciones Orales CO1	9.00-10.00 hs	Comunicaciones Orales CO5
15.00-19.00 hs	10.00-10.30 hs	10.00-10.30 hs	Café	10.00-10.30 hs	Café
	10.30-12.30 hs	10.30-12.30 hs	Mesas Redondas MR1	10.30-12.30 hs	Mesas Redondas MR5
	12.30-14.00 hs	12.30-14.00 hs	Almuerzo	12.30-14.00 hs	Almuerzo
	14.00-15.00 hs	14.00-15.00 hs	Conferencias C2	14.00-15.00 hs	Conferencias C4
19.00-19.30 hs	15.00-16.00 hs	15.00-16.00 hs	Comunicaciones Orales CO3	15.00-16.00 hs	Comunicaciones Orales CO7
	16.00-18.00 hs	16.00-18.00 hs	Mesas Redondas MR3	16.00-18.00 hs	Mesas Redondas MR7
19.30-20.30 hs	18.00-20.00 hs	18.00-20.00 hs	Posters (1º piso) *	18.00-19.00 hs	Conferencia de Cierre (C6) (Aula Magna)
20.30-22.00 hs	20.00-21.00 hs	20.00-21.00 hs	Asamblea Anual SAP	19.00-20.45 hs	Posters (1º piso)
				20.45 hs	Entrega de Premios / Clausura

*Taller de Helminetos: C3, CO4, MR4, Posters



Sumario:

Discurso de apertura	13
Conferencias (C1 a C6)	14
Simposio (S1 a S8): “Tratamiento para la enfermedad de Chagas: desafíos y progresos”	18
Mesas Redondas (MR)	23
<i>MR1: Señalización a través de modificaciones post-traduccionales de proteínas en trypanosomátidos (MR1.1 a MR1.4)</i>	23
<i>MR2: Eco- epidemiología de enfermedades vectoriales (MR2.1-MR2.4)</i>	24
<i>MR3: Aspectos de la relación parásito - huésped (MR3.1-MR3.4)</i>	26
<i>MR4: Biología celular y molecular de parásitos helmintos: Claves para comprender su biología y potenciales aplicaciones al control (MR4.1-MR4.4)</i>	28
<i>MR5: Identificación de potenciales blancos terapéuticos y tamizaje de drogas (MR5.1-MR5.4)</i>	31
<i>MR6: Transmisión materno infantil del <i>Trypanosoma cruzi</i> (MR6.1-MR6.4)</i>	33
<i>MR7: Modulación de la respuesta inmune en enfermedades Parasitarias (MR7.1-MR7.4)</i>	35
<i>MR8: Epidemiología molecular de protozoarios (MR8.1-MR8.4)</i>	37
Comunicaciones Orales (CO1 a CO8)	40
Pósters	44
Sección: Epidemiología y Vectores (EyV) EyV1 - EyV25.....	44
Sección: Diagnóstico y Quimioterapia (DyQ) DyQ1 - DyQ38.....	54
Sección: Inmunología y Patogenia (IyP) IyP1 – IyP30.....	70
Sección: Bioquímica y Biología Molecular (ByBM) ByBM1 – ByBM71.....	83
Índice de autores	112

Estimados Colegas, Compañeros y Amigos:

En nombre del comité organizador de la XXVII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología, les doy la cordial bienvenida a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, donde podrán compartir sus resultados y participar de la discusión científica sobre temas relevantes en el área de la Parasitología y las Enfermedades Parasitarias.

El evento cuenta con un ajustado programa cuidadosamente desarrollado por expertos de reconocida trayectoria en distintas áreas que dirigen y conforman un brillante comité científico. Aprovecho estas líneas para agradecerles muy especialmente por el esfuerzo y la dedicación que han puesto.

Además es un honor y un privilegio compartir con Ustedes la conmemoración de los 35 años de los inicios de las gestiones para que el simple hecho de encontrarnos hoy todos reunidos sea una realidad. En este sentido, y sintiéndome con la prerrogativa de hablar en representación de todas aquellas personas que valoran y colaboran activamente para hacer de la SAP una Sociedad creciente y pujante, deseo agradecer, en primer lugar, a los Socios Fundadores y hacer extensivo el agradecimiento a todos aquellos que año a año toman la responsabilidad para dirigir la Sociedad y para la organización de las Reuniones y Congresos. Finalmente, deseo destacar el valor de la participación de los más jóvenes, y la relevancia que tiene el escuchar lo que tienen para contarnos y el compartir tiempo de discusión científica de calidad con cada uno de ellos. En mi opinión, y recordando lo que siempre significó para mí la espera de que alguna de las Personas que leía en los “papers” se acercara a mi poster, la discusión profunda y los aportes de los más experimentados debe ser uno de los pilares de nuestras reuniones.

La Ciudad Autónoma de Buenos Aires, ciudad sede del evento tiene un encanto propio que con seguridad podrán disfrutar. Bienvenidos!

Dr. Guillermo D. Alonso

Conferencias (C)

C1- ESTUDIOS DE LA BIOQUÍMICA DEL *TRYPANOSOMA CRUZI* EN BUSCA DE BLANCOS PARA EL DESARROLLO DE DROGAS TRIPANOCIDAS.

Juan J. Cazzulo.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, IIB-INTECH, UNSAM-CONICET. E-mail: jcazzulo@iibintech.com.ar

Las drogas en uso actualmente para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas, el Nifurtimox y el Benznidazol presentan efectos secundarios adversos y escasa efectividad en un número significativo de casos. Ello hace necesario el desarrollo de nuevos fármacos, efectivos, con menores efectos secundarios y con bajo costo que los haga accesibles para los pacientes. En la segunda mitad del Siglo XX se desarrolló el concepto de quimioterapia racional, consistente en identificar blancos en el patógeno lo suficientemente importantes como para que su inhibición lo afecte selectivamente, con escaso o nulo efecto sobre el hospedador. El caso óptimo es cuando el blanco es esencial para el patógeno y está ausente en el hospedador, pero también puede ser muy útil un blanco que, aún presente en ambos, sea mucho más importante para el patógeno que para el hospedador, por disponer este último de algún sistema alternativo ausente en el patógeno.

Desde las últimas décadas del Siglo XX se han efectuado importantes avances en el conocimiento de la bioquímica del *Trypanosoma cruzi* y otros tripanosomátidos, que han llevado a la identificación de algunos blancos posibles; entre ellos, se considera en la actualidad blancos validados a la cruzipaina y a varias enzimas de la biosíntesis del ergosterol, habiendo ya en marcha ensayos preclínicos o, en el segundo caso, clínicos, usando inhibidores de las mismas. La identificación de la cruzipaina como blanco se debió a estudios iniciados por nuestro grupo de trabajo en 1984, y complementados por los de Julio Scharfstein en Rio de Janeiro, que llevaron a caracterizar a la enzima como un factor de virulencia del parásito, y por los de James McKerrow en San Francisco, en particular para el desarrollo de inhibidores. En el caso de varias enzimas de la biosíntesis del ergosterol, la mayor parte de la información sobre las mismas fue obtenida por los grupos de Julio Urbina y Roberto Docampo, quienes también efectuaron estudios pioneros sobre el efecto de inhibidores, como los azoles, ya caracterizados como antifúngicos, y los bisfosfonatos, utilizados para el tratamiento de la osteoporosis.

Los estudios que hemos realizado desde el comienzo del Siglo XXI han llevado a la identificación de tres blancos potenciales, prometedores por no tener ortólogos en los mamíferos, pero que aún no han sido validados como tales. Se trata 1) de una enzima de la vía de las pentosas fosfato, la ribosa 5 fosfato isomerasa (RPI), que en *T. cruzi* corresponde al tipo B, presente en muchos procariotas y ausente en los animales, que tienen la RPI tipo A, con estructura completamente diferente. Disponemos ya de la estructura 3D de la RPI de *T. cruzi*, en complejo con un sustrato o un inhibidor, lo que permite identificar los residuos de aminoácidos esenciales en el sitio activo. 2) dos metalocarboxipeptidasas (MCPs) pertenecientes a la familia M32, que está presente en procariotas y en algunas algas unicelulares, y ausente en todos los genomas eucarióticos ya secuenciados. Disponemos de la estructura 3D, también obtenida por cristalografía de Rayos X, de la TcMCP-1, pero no hemos podido obtenerla aún en complejo con un inhibidor; de hecho, no hay descriptos buenos inhibidores de estas enzimas en otros organismos. 3) Las dos metacaspasas TcMCA-3 y TcMCA-5. Las enzimas de esta clase se encuentran presentes en plantas, hongos y protozoarios, y no tienen homólogos en los animales, que poseen en cambio las caspasas, con propiedades muy diferentes. Hemos demostrado que participan en *T. cruzi* tanto en procesos relacionados con la muerte celular programada, como en la regulación del ciclo celular.

Actualmente, en base a los estudios básicos ya realizados, que continuamos activamente, estamos intentando identificar inhibidores específicos de estas enzimas y/o noquear los genes que las codifican, para alcanzar eventualmente su validación como blancos para quimioterapia.

C2- VESÍCULAS EXTRACELULARES EN PARASITOLOGÍA: UNA NUEVA FORMA DE COMUNICACIÓN A DISTANCIA ENTRE PARÁSITOS Y HOSPEDEROS

Antonio Marcilla^(1,2), María Trelis^(1,2), Dolores Bernal⁽³⁾.

⁽¹⁾Área de Parasitología, Departament de Biologia Cel·lular i Parasitologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de València, Burjassot (Valencia). ⁽²⁾Unidad mixta de Investigación en Endocrinología, Nutrición y Dietética Clínica, Universitat de València-Instituto de Investigación en Salud La Fe, Valencia. ⁽³⁾Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València, Burjassot (Valencia), España. E-mail: antonio.marcilla@uv.es

Las vesículas extracelulares constituyen un nuevo paradigma de comunicación celular tanto en organismos procariotas como eucariotas. Descritas inicialmente en 1983 por los grupos de Johnstone y Stahl en reticulocitos (1, 2), dichas vesículas

han sido objeto de interés creciente en los últimos años por su capacidad de transferir proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, ejerciendo distintos efectos en las células receptoras.

Estas vesículas se clasifican según su origen y tamaño en exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos. Se han identificado vesículas extracelulares, fundamentalmente exosomas, en numerosos tipos celulares y prácticamente en todos

los fluidos biológicos en humanos, sugiriendo su utilidad en el diagnóstico y pronóstico de diversos estados fisiológicos y patológicos (3).

Las primeras descripciones de vesículas extracelulares en parásitos se realizaron en protozoos, concretamente en *Leishmania* spp. y *Trypanosoma cruzi*, donde transportan factores de virulencia (4). Dichas vesículas han sido también descritas en apicomplejos como *Plasmodium* spp., donde parecen jugar un importante papel de comunicación entre parásitos, así como en flagelados como *Trichomonas vaginalis*, donde también se relacionan con virulencia (5-7).

Nuestro grupo de investigación fue el primero en identificar y caracterizar vesículas extracelulares en helmintos parásitos, en concreto en trematodos (*Echinostoma caproni* y *Fasciola hepatica*), donde se confirmó su incorporación a células del hospedero (8). Y más recientemente hemos descrito por primera vez la presencia de pequeños RNAs (microRNAs) en vesículas extracelulares de helmintos parásitos (9). En la actualidad existe un número creciente de descripciones de vesículas extracelulares en parásitos, fundamentalmente en helmintos, donde parece que tendrían un posible papel en la regulación de la respuesta inmunitaria (10, 11).

En resumen, las vesículas extracelulares de parásitos transportan moléculas específicas (biomarcadores) que pueden regular tanto el proceso de infección como la respuesta inmunitaria, haciéndoles excelentes candidatas para el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas, de vacunación, así como agentes de uso terapéutico.

Referencias:

(1) Pan & Johnstone (1983). Cell, 33:967-97. (2) Harding, Heuser & Stahl (1983). J. Biol. Chem., 97:329-339. (3) Yáñez-Mó et al., (2015). J Extracell Vesicles, 4:27066. (4) Silverman & Reiner (2012). Cell. Microbiol., 13:1-9. (5) Martin-Jaular et al., (2011). PLoS One, 6(10):e26588. (6) Twu et al., (2013). PLoS Pathog., 9(7): e1003482. (7) Marcilla et al., (2014). J Extracell Vesicles, 3:25040. (8) Marcilla et al., (2012). PLoS One, 7(9):e45974. (9) Bernal et al., (2014). J Proteomics, 105:232-241. (10) Montaner et al., (2014). Front. Immunol., 5:433. (11) Buck et al., (2014). Nat. Communications, 5:5488.

Agradecimientos: Universitat de València UV-INV-AE14-265774.

C3- ALTERACIONES INDUCIDAS EN EL HOSPEDADOR POR LA TRANS-SIALIDASA DE TRYPANOSOMA CRUZI

Oscar Campetella, Juan Mucci, Juan Burgos y M. Susana Leguizamón.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín IIB-INTECH, CONICET, Buenos Aires, Argentina. E mail: ocampetella@gmail.com

Trypanosoma cruzi suple su incapacidad de realizar síntesis *de novo* de ácido siálico, mediante la expresión de una sialidasa modificada que le permite adquirirlo transfiriéndolo desde los glicoconjugados del hospedador hacia sus aceptores de superficie, primariamente mucinas. Esta enzima es conocida como *trans-sialidasa* (TS). La sialidación del trypomastigote le permite evadir lisis en sangre y está involucrada en la interacción con la células hospedadora. Además de sialidar la superficie del parásito, la TS es liberada al medio siendo distribuida en sangre lo cual le permite actuar a distancia del sitio de infección. La TS circulante altera profundamente el sistema inmune durante la fase aguda de la infección, antes de la aparición de los anticuerpos neutralizantes. La proteína tiene una extensión C-terminal repetitiva conocida como SAPA fuertemente antigénica y que le permita extender su vida media en sangre. Existen dos isoformas naturales de la TS una enzimáticamente activa (aTS) y una inactiva (iTS) debido a una mutación puntual en el codón codificante para Tyr342His. Sin embargo, iTS retiene la capacidad de ligarse al sustrato lo cual la transforma en una lectina. El análisis de este SNP en las distintos linajes del parásito indicó la presencia de genes codificantes para aTS en todos ellos y la ausencia de iTS en los Tc-I, III y IV. aTS conserva una baja capacidad de sialidasa que se expresa cuando está presente en alta concentración o en ausencia de aceptores de sialilo adecuados. En las etapas tempranas de la infección aTS es responsable de la plaquetopenia y eritropenia observadas debido a la desialidación inducida. De modo que se expresarán tres actividades posibles con diferentes características biológicas: sialidasa, TS y lectina. La TS sialida diversas células T afectando fuertemente su actividad. Por otra parte, el compartimento B también es afectado, dado que la TS induce en estas células la producción de IL17. La TS induce apoptosis de timocitos CD4CD8 (+) y altera el comportamiento de las células T maduras. Sobre las células T CD8(+) la hipersialidación induce su incapacidad de penetrar tejidos y por lo tanto de ejercer apropiadamente su acción citotóxica. Sobre las T CD4(+) se observa reducción de la inducción de la respuesta Th1 y desvío hacia una respuesta Th2. El mecanismo involucra la inducción de IL10 por las APC durante la interacción con las células T CD4(+). Paralelamente, cuando los linfocitos se polarizaron *in vitro* hacia Th1/Th2, los Th1 resultaron inhibidos en la producción de IL2 e IFN γ mientras que los Th2 aumentaron la producción de IL2 en presencia de TS. De modo que la TS es capaz de alterar el compartimiento T desde los estadios mas inmaduros hasta la fase efectora de la respuesta T. Si bien se ha establecido que la respuesta Th1 es protectora durante la infección, una excesiva respuesta de inmunidad celular resulta dañina para el hospedador, de modo que su regulación y balance mejora la sobrevida tanto al parásito como al daño tisular inducido.

C4- PECULIARITIES OF AUTOPHAGY AND AUTOPHAGY-RELATED PROTEINS IN TRYPANOSOMATIDS

Paul Michels.

University of Edinburgh, United Kingdom. E-mail: paul.michels@ed.ac.uk

Trypanosomatids compartmentalize the major part of their glycolytic pathway and parts of other core metabolic processes in peroxisomes called glycosomes. However, the relative amounts of different glycosomal enzyme systems may differ considerably in sequential life-cycle stages of the parasites.

In yeasts, autophagy is essential for adaptation to different nutritional environments by participating in the renewal of the peroxisome population. We hypothesized that autophagic turnover of glycosomes in trypanosomatids plays a role in differentiation during their life cycle, which demands adaptation to different host environments with drastically different nutritional conditions.

Autophagy in yeasts, plants and mammals involves several partially overlapping pathways, responsible for both nonspecific degradation of cell constituents such as cytosol and organelles and the specific degradation of organelles such as peroxisomes called pexophagy. Two main routes can be distinguished: macroautophagy, involving formation of double-membrane bounded autophagosomes around the material destined for degradation in the lysosomes and microautophagy, where the sequestering occurs directly by engulfing cytoplasmic material by the lysosomal membrane.

We identified homologs for nearly half of the approximately 30 known yeast autophagy-related proteins (ATGs) in the TriTryp DataBase, but in most cases with only a low degree of similarity. So far, only a few of these homologs have their role in autophagy experimentally confirmed.

Autophagy in trypanosomatids appeared indeed to be upregulated when conditions changed, such as during starvation, stress and differentiation. Cytological studies of *Trypanosoma brucei* provided strong indications for pexophagy, notably micropexophagy, by observing a colocalization of glycosomal aldolase and lysosomal p67 and a surrounding of the lysosome by glycosomes during the transformation of slender to stumpy bloodstream forms. Pexophagy increased even more dramatically during the differentiation from stumpy to procyclic forms, which are completely adapted to living in the insect midgut.

As shown by others, *Leishmania major* metacyclics also undergo increased autophagy when differentiating to amastigote forms; however, the elevated glycosome degradation seemed due to an overall increase in autophagy, not pexophagy. Whether degradation of trypanosomatid glycosomes involves the specific process of pexophagy –as observations in *T. brucei* suggest– or (only) by nonspecific autophagy –as seemed to happen in *L. major*– remains to be confirmed. Pexophagy relies on factors that specifically recognize peroxisomes to target them for degradation. Such factors are generally poorly conserved; even in different yeasts different pexophagy-specific ATG proteins have been identified. No such factors have been identified as yet in trypanosomatids. Among the trypanosomatid candidates was the ortholog of Atg24 that is involved in pexophagy in yeast. We therefore characterized this *T. brucei* ortholog. No specific role in glycosome degradation was found, but it appeared to have a regulatory role in general autophagy and differentiation as well as endocytic trafficking. ATG24 partially localized on endocytic membranes. Its silencing severely impaired receptor-mediated endocytosis of transferrin, but not adsorptive uptake of a lectin, and caused a major enlargement of the flagellar pocket. The ATG24 silencing also resulted in doubling the number of autophagosomes, suggesting a role in repressing autophagy, and strongly accelerated differentiation, in accordance with a role of autophagy in differentiation. Overexpression of the two isoforms of *T. brucei* ATG8, an autophagosome marker, fused to GFP slowed down differentiation, possibly by a dominant-negative effect. This was overcome by ATG24 depletion, further supporting its regulatory role.

C5- ECO-EPIDEMIOLOGIA O ECOLOGÍA + EPIDEMIOLOGÍA: LEISHMANIASIS EN ARGENTINA

Oscar D Salomón^(1,2) y grupo REDILA.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Medicina Tropical, Puerto Iguazú, Argentina. ⁽²⁾Investigador CIC CONICET-. E-mail: dsalomon@msal.gov.ar

La epidemiología, desde sus comienzos como disciplina analítica, enfocó su metodología en variables que se distribuyen en un tiempo y espacio definido, y lo trascienden. John Snow mediante las historias individuales de los casos de cólera de Londres, construyó su hipótesis de riesgo colectivo. Rudolf Virchow desde la teoría celular hasta la medicina social, planteó el tema de la escalas, enunciado que “enfermedades masivas requieren soluciones masivas”.

Sin embargo, a partir de los desarrollos metodológicos que se concentraron en los factores de riesgo, y luego en los mecanismos causales a nivel molecular, algunos autores percibieron que la epidemiología dejó de ser una herramienta de salud pública. Geoffrey Rose planteó que las causas de los casos son diferentes a las causas de la incidencia (poblaciones), Paolo Vineis que los estudios epidemiológicos se desarrollaron alrededor de los métodos genéricos para medir ocurrencia de enfermedad y no a la inversa, Neil Pearce que la motivación de la epidemiólogos se desplazó de la salud colectiva al prestigio científico e intervención individual.

Finalmente Mervyn Susser propondrá una nueva aproximación, que rescata las propuestas del siglo XIX, pero en el contexto ideológico de la segunda mitad del siglo XX, la eco-epidemiología. Esta se fundamenta en la problemática multinivel (multidisciplinaria), multiescala (tiempo y espacio), que representa con la metáfora de las cajas chinas. Lo “eco” de la eco-epidemiología corresponde al concepto de ecología en epidemiología (asociación poblacional) y no al sentido ecología como disciplina biológica.

De esta manera surgen nuevos problemas metodológicos, pero a su vez una confusión. Es usual hablar de eco-epidemiología cuando se habla de ecología + epidemiología, asociando factores ambientales con distribución en tiempo y espacio de la probabilidad de transmisión, enfoques relacionados a la nidalidad de Yevgeny Pavlovsky, a la epidemiología del paisaje y panorámica, antes que a la eco-epidemiología como la planteara Susser en sus trabajos fundacionales.

Desde lo metodológico, el diálogo entre disciplinas bio-ecológicas, bio-médicas y sociales, simultáneo al diálogo entre escalas, generó dificultades metodológicas, que han logrado soluciones parciales y no siempre satisfactorias. Los modelos basados en teorías de la complejidad y el caos, tampoco han colaborado en encontrar soluciones prácticas de intervención en salud pública.

Un camino, que retorna a John Snow, es el análisis anclado en una escala operativa de tiempo y espacio, y la observación desde dicho recorte a las otras escalas. Luego, cada estudio puede integrar niveles y escalas, como esfuerzo posterior. Para ello se debe definir una unidad de análisis contextual, variables contextuales, modelo de enfermedad del nivel inferior, y observar los residuos de la asociación entre escalas.

Como ejemplo de esta propuesta metodológica se presentan los resultados de la Red de Investigación de la leishmaniasis en Argentina-REDILA sobre leishmaniasis tegumentaria (LT) y visceral (LV). Para ello, se dividió cronológicamente la historia de la LT-LV en el país en tres períodos. El período 1920-1984 contiene los casos esporádicos de LT y registro de LV que en la misma zona endémica. El período 1985-2005 corresponde al registro de brotes epidémicos de LT, que comienzan en el NOA y terminan en 1998 llegando al NEA. El período que comienza en el 2006 se caracteriza por la aparición de la LV, y la incorporación de nuevos actores corporativos que concentran la problemática en la LV canina, y se agregan a los discursos con reclamo de legitimidad compartida o única. Se presentarán los diferentes niveles de estudio por período, y su integración en función de los objetivos correspondientes a cada escala, macro-escala para la decisión política, meso-escala para la decisión programática, y micro-escala para la decisión operacional.

C6- MEDICINA TRASLACIONAL ¿FACTIBLE O DESEABLE? EXPERIENCIA DE UN LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN PARASITOLOGÍA.

Stella M. González Cappa.

Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología. IMPaM (UBA-CONICET). Facultad de Medicina. UBA. E mail: smgcappa@gmail.com

Según lo expresan numerosos autores el concepto de medicina traslacional señala un objetivo fácil de definir pero difícil de conseguir: facilitar la transición de la investigación básica en aplicaciones clínicas que redunden en beneficio de la salud. Consiste en aplicar con eficiencia el conocimiento de procesos celulares, moleculares, fisiológicos, químicos o genéticos a la búsqueda de tratamientos eficaces o técnicas de prevención o diagnóstico. Se denomina *from bench to bed-side*. (del laboratorio a la cabecera del enfermo).

La explosión de conocimientos básicos sobre procesos biológicos y mecanismos patogénicos genera brechas cada vez mayores entre estos avances y su aplicación en la práctica médica.

En la industria farmacéutica por ej., el progreso en los conocimientos en I+D sobre nuevas moléculas no siempre se traduce en la generación de nuevos medicamentos, y en la práctica hay un lento declive de los medicamentos comercializados.

Según Bruce H. LITTMAN y col. (Clinical Science (2007) 112, 217–227), para la academia la medicina traslacional significa el ensayo de nuevas ideas originadas en la investigación básica con la esperanza de que sean útiles en la clínica. También es la generación de hipótesis por la observación del hombre y sus enfermedades. Responde a la necesidad de acelerar la incorporación de los beneficios de la investigación para acortar la brecha entre “lo que conocemos y lo que practicamos”. Esto significa la transferencia de avances diagnósticos y terapéuticos - que hayan probado ser efectivos en ensayos correctamente realizados - a la práctica médica.

En nuestro laboratorio, el primer proyecto de medicina traslacional surgió de una observación hecha en el hospital por una médica residente (a la vez docente de nuestro Dpto.), relativo al subdiagnóstico de estrogiloidosis. Para ello se desarrolló una técnica altamente sensible para detección de ácidos nucleicos que mejoró la sensibilidad diagnóstica y permitió administrar el tratamiento adecuado en tiempo y forma, así como el seguimiento postratamiento. Este estudio también permitió determinar signos de posibles reactivaciones. Actualmente numerosos pacientes reciben los beneficios de la aplicación de esta metodología. En este caso fue “desde la cabecera del paciente al laboratorio y vuelta a la cabecera del paciente”.

Actualmente hay un segundo proyecto donde se intenta determinar si ciertos hallazgos de laboratorio son posibles marcadores pronósticos de la evolución clínica de la cardiopatía chagásica humana.

Agradecimientos: Investigadores: Repetto S, Alba Soto C, Ruybal P, Solana ME.

Financiamiento: ANPCyT, UBA, CONICET.



Simposio (S)

TRATAMIENTO PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS: DESAFÍOS Y PROGRESOS

Coordinadores: María Elisa Solana / Adelina Riarte

Presentadora: Isabela Ribeiro

S1- ¿HAY MEDICINA BASADA EN EVIDENCIA PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS?

Juan Carlos Villar.

Universidad Autónoma de Bucaramanga y Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología, Bogotá, Colombia. E-mail: jvillar@unab.edu.co

La medicina basada en evidencia (MBE) como marco conceptual para orientar la práctica clínica consiste en la incorporación juiciosa de la mejor información disponible para orientar las decisiones. Por sus características, la práctica de la MBE implica que el entendimiento de la biología y los mecanismos fisiopatológicos tenga importancia en la medida que este se traduzca en resultados importantes para los pacientes. Para el caso de la enfermedad de Chagas (ECHA), la práctica de la MBE depende tanto de la calidad de información que se produce en este campo, como de nuestra capacidad para su adecuada interpretación, de modo que puedan tomarse decisiones informadas con influencia en los resultados finales de nuestra práctica.

Nuestra participación en mesa redonda se enfocará en hacer un juicio a estos dos aspectos, producción y uso del conocimiento, en el contexto de la ECHA. Trataremos de mostrar, por comparación con otras situaciones médicas frecuentes, algunas situaciones paradójicas o contradictorias entre la información ofrecida por los investigadores, su interpretación y la práctica cuando se trata de la ECHA.

Inicialmente presentaremos un marco conceptual e histórico de lo que llamamos hoy MBE. Tomaremos como referencia algunos ejemplos exitosos para mejorar los resultados de la práctica clínica. Haremos mayor énfasis en las decisiones en tratamiento, en aplicación particular para ECHA al tratamiento tripanocida (TT). Sobre la base de los conocimientos acumulados previamente, haremos una apreciación crítica de los resultados de los estudios más importantes en esta materia, ambos de terminación reciente, TRAENA y BENEFIT.

Hasta el momento de la publicación del estudio BENEFIT, la documentación de la eficacia clínica del TT se basaba en estudios observacionales. Los resultados agregados de esos estudios mostraban un probable beneficio, proveniente de una información con alto riesgo de sesgo, con resultados estadísticamente imprecisos e inconsistentes entre estudios. Por fortuna estos nuevos estudios representan esfuerzos gigantescos para superar esta incertidumbre clínica. Discutiremos el impacto de estos resultados sobre el cuerpo de evidencia acumulada, las futuras recomendaciones para la práctica clínica y la investigación sobre el tratamiento de la ECHA hacia el futuro.

S2- NANOMEDICINAS EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS: UNA PERSPECTIVA REALISTA

Eder L Romero.

Programa de Nanomedicinas-2, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. E mail: elromero@unq.edu.ar

Además de una enfermedad desatendida, el Mal de Chagas es la parasitosis más importante de las Américas. Originariamente limitada a Latinoamérica, en la actualidad se ha extendido a los Estados Unidos y a parte del continente europeo, donde se transmite sin intervención de un insecto vector. Su agente etiológico es el *Trypanosoma cruzi*, un protozooario que en el humano induce una infección aguda usualmente asintomática, con predominio de tripomastigotes, la forma extracelular y móvil en sangre, seguido por una fase crónica donde la forma intracelular del parásito se hospeda fundamentalmente en células cardíacas o del tracto gastrointestinal. Aproximadamente un tercio de los infectados desarrollará en algún momento una cardiomiopatía chagásica, responsable de pérdida de horas útiles laborales y potencialmente de muerte súbita. La droga empleada como agente antichagásico en el año 2015 es la misma desde hace unos 40 años: un 2-nitroimidazol hidrofóbico, el benznidazol. Esta droga es efectiva contra tripomastigotes e inocua en niños con la forma aguda, pero sumamente tóxica en adultos y poco efectiva para erradicar las formas intracelulares, verdaderas responsables de la perpetuación de la infección. A pesar de su escasa eficacia sobre los casos crónicos, hasta el momento la búsqueda de drogas clásicas alternativas al benznidazol no ha rendido resultados alentadores. Y a pesar de la magnitud del problema de salud que constituye la infección, lo más novedoso ofrecido por las compañías farmacéuticas está limitado a formulaciones que pueden fraccionarse mejor y absorberse bucalmente, potencialmente reduciendo el primer paso de metabolización hepática, disminuyendo así su toxicidad. En este contexto, la intervención de una estrategia nanotecnológica podría resultar una solución al desafío de la erradicación eficiente de los amastigotes. Para tal fin, se

requiere diseñar nano-objetos capaces de entregar cantidades terapéuticas de droga antichagásica al citoplasma de células infectadas. Una estrategia semejante, mediada por la nanomedicina anfotericina B liposomal, es responsable de la eliminación de los parásitos intracelulares que causan la leishmaniasis visceral. En esta presentación discutiremos las bases racionales de una estrategia terapéutica experimental nanomedica contra la infección chagásica. Describiremos la estructura de diferentes tipos de nano-objetos que podrían emplearse para la entrega de diferentes drogas al citoplasma de células infectadas, así como los fundamentos de su ruta de administración, farmacocinética, biodistribución y procesamiento intracelular. Finalmente, a la luz del éxito de una de las nanomedicinas más antiguas contra la leishmaniasis visceral, en esta presentación intentaremos responder a la pregunta de cuándo y cómo las nanomedicinas pueden ser una opción realista contra enfermedades desatendidas como el Mal de Chagas.

S3- AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE DROGAS UTILIZADAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Jaime Altcheh⁽¹⁾, G Moscatelli⁽¹⁾, S Moroni⁽¹⁾, G Mastrantonio⁽²⁾, E Marson⁽²⁾, F Garcia-Bournissen⁽¹⁾.

⁽¹⁾Parasitología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires. ⁽²⁾Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. E mail: jaltcheh@gmail.com

Actualmente sólo existen 2 drogas disponibles para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, nifurtimox y benznidazol. Sus propiedades farmacológicas no han sido estudiadas en detalle especialmente en lactantes, niños, los ancianos y las mujeres embarazadas. A pesar de la marcada eficacia de estas drogas en el tratamiento, no han sido estudiados en la población pediátrica. A esto se le agrega la ausencia completa de formulaciones adecuadas lo que obliga a fraccionar comprimidos preparados para adultos, con los consiguientes riesgos asociados. En un estudio previo describimos una cohorte de 107 niños tratados con benznidazol con una tasa de curación elevada con pocos eventos adversos y sin eventos adversos serios. La incidencia de eventos adversos se incrementa a partir de los 7 años de edad, acercándose a la incidencia reportada en adultos. En un estudio de farmacocinética poblacional observamos concentraciones plasmáticas de benznidazol significativamente menores en los niños \leq de 7 años, con eliminación de benznidazol mayor en niños pequeños sugiriendo una relación directa entre eventos adversos y niveles plasmáticos. Nuestro grupo realizó el primer estudio de farmacocinética poblacional al estudio del pasaje de nifurtimox y benznidazol a la leche materna que sugiere que el riesgo de exposición del lactante sería mínimo. Estudios recién finalizados confirmaron que el pasaje de la droga es escaso en un grupo de madres tratadas tanto con benznidazol como con nifurtimox. Esto ha creado una nueva oportunidad de tratamiento especialmente en poblaciones de alta tasa de fecundidad. donde los tiempos libres sin embarazo y sin lactancia son escasos para poder iniciar tratamiento.

Referencias:

(1) Altcheh J., Moscatelli G, Moroni S, Garcia-Bournissen F, Freilij H. Adverse events after the use of benznidazole in infants and children with chagas disease. *Pediatrics* 2011; 127, e212-e218. (2) García-Bournissen F, Moroni S, Marson ME, Moscatelli G, Mastrantonio G, Bisio M, Cornou L, Ballering G, Altcheh J. Limited infant exposure to benznidazole through breast milk during maternal treatment for Chagas disease. *Arch Dis Child*. 2014. doi: 10.1136/archdischild-2014-306358. (3) Altcheh J, Moscatelli G, Mastrantonio G, Moroni S, Giglio N, Marson ME, Ballering G, Bisio M, Koren G, García-Bournissen F. Population pharmacokinetic study of benznidazole in pediatric Chagas disease suggests efficacy despite lower plasma concentrations than in adults. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 May 22;8(5):e2907. (4) Garcia-Bournissen,F. et al. Pediatric clinical pharmacology studies in Chagas disease: focus on Argentina. *Paediatr. Drugs* 2009,11:33-37. (5) Raaflaub,J. Multiple-dose kinetics of the trypanosomicide benznidazole in man. *Arzneimittelforschung*.30, 2192-2194 (1980)

S4- ESTUDIOS PRECLÍNICOS CON DROGAS TRIPANOCIDAS. RECOMENDACIONES DE LA REUNIÓN NACIONAL 2015

Laura E. Fichera.

Instituto Nacional de Parasitología ANLIS Malbrán. CONICET. E-mail: lfichera@yahoo.com

Los ensayos preclínicos de estudios de drogas con ACCIÓN TRIPANOCIDA, ya sea sus nuevas formulaciones, sus combinaciones para evaluar sinergia, o de nuevos fármacos, nos permiten obtener información necesaria para realizar estudios en seres humanos, sin exponerlos a riesgos injustificados. Luego de cuatro décadas, el Nifurtimox y el Benznidazol continúan siendo los fármacos utilizados por sus efectos tripanocidas, para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas más allá de sus efectos adversos. Esta última situación crítica, evidencia por un lado, la necesidad de nuevas formulaciones más solubles, con mejor vehiculización y menos tóxicas y por el otro, el de hallar el/los mejores modelos experimentales, como lo son en la actualidad los modelos murinos. Si bien algunos estudios en estos modelos mostraron excelentes resultados como en los ensayos con posaconazol y ravuconazol y más recientemente con el fexinidazol testeado a través de bioluminiscencia, no se reprodujeron en los pacientes debido a falla del tratamiento en los primeros y a serios efectos adversos con el fexinidazol, que motivaron la suspensión del protocolo. Con la necesidad de estandarizar procedimientos en ensayos preclínicos en el 2008 se realizó en Río de Janeiro un taller de estudios preclínicos para determinar eficacia de nuevos fármacos tripanocidas y consensuar requisitos y niveles de estudios *in vitro* / *in vivo* en modelos experimentales con la participación de expertos de DNDi y la Fundación Oswaldo Cruz. En mayo de 2015 en base a la necesidad de responder la

pregunta si es posible consensuar modelos animales debido a la intensa actividad de búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas y, a los múltiples modelos animales para evaluación preclínica, se convocó en nuestro Instituto a un Taller de Ensayos Preclínicos de investigadores argentinos y del DNDI. Algunas recomendaciones de la reunión sugieren en la infección aguda, la utilización de dos cepas de ratones endocriados infectados con *T. cruzi*, aislados preferentemente del país y clones del laboratorio y en la etapa crónica infectar con una cepa de *T. cruzi* con tropismo cardíaco. En este marco de estudios tripanocidas, en nuestro laboratorio se estudió el efecto de un tratamiento combinado con bajas dosis de benznidazol asociado con alopurinol en diferentes modelos murinos infectados crónicamente con una cepa de *T. cruzi* y un aislado de zona endémica ambos con UDTI. Se analizó la respuesta al tratamiento con métodos que permitieron evaluar la reducción de la patología cardíaca, como la electrocardiografía, que fue determinante para caracterizar trastornos de conducción y arritmias cardíacas y su reversión pos-tratamiento. La elección de diferentes métodos de evaluación para cada modelo experimental que amplifiquen la información de la respuesta a los tratamientos cobra relevancia en una mejor definición del valor preclínico de los modelos animales.

S5- TRATAMIENTO CON BENZNIDAZOL EN PACIENTES ADULTOS CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA. UN ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO (ECA) A DOBLE CIEGO EN FASE 3.

Nilda Prado.

Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatała Chaben. ANLIS-MALBRAN. Email: ngracielap@yahoo.com.ar

TRAENA es el primer ECA que se realizó en pacientes adultos con enfermedad de Chagas crónica (EChC). Su hipótesis fue determinar si el benznidazol (BZN) podría disminuir la morbi-mortalidad, además de evaluar ELISAs convencional y F29, y qPCR, como subrogantes del efecto clínico. Población: pacientes urbanos con EChC procedentes de la Ciudad de Buenos Aires y alrededores. La misma presentó una distribución natural de los diferentes estadios de la EChC, de acuerdo a Kuschnir. Se excluyeron pacientes con tratamiento parasiticida previo; > de 55 años; otras miocardiopatías; enfermedad hepática, renal o discrasia sanguínea; embarazo, o que no hayan firmado el CI.

Aleatorización: Los pacientes fueron aleatorizados, en bloques, estratificados por estadio clínico a 2 intervenciones: BZN o Placebo (PL). Se administró BZN o PL a la dosis de 5mg/Kg/día durante 60 días.

Puntos Finales. Eventos clínicos primarios: mortalidad total, mortalidad cardiovascular, desarrollo de insuficiencia cardíaca (IC), arritmias severas con compromiso hemodinámico o implante de marcapaso definitivo o cardiodesfibrilador.

Eventos clínicos secundarios como agrandamiento del VI en el ecocardiograma, nuevo desarrollo de IC y ACV. Eventos secundarios electrocardiográficos: presencia de nuevos cambios en el ECG diferentes a los del tiempo inicial y cambios de estadio.

Resultados. El reclutamiento se realizó entre 1999-2003. Se efectuó control laboratorial y clínico cada 4 meses durante los años 1 y 2, cada 6 meses los años 3 y 4 y luego anualmente hasta el fin del seguimiento. Se seleccionaron 910 pacientes y se aleatorizaron 763, la distribución final fue de 382 pacientes para BZN y 381 para PL. Considerados los que no retiraron medicación y los pacientes perdidos permanecieron en cada brazo: 330 y 336 para BZN y PL, respectivamente. Las características basales de las pacientes fueron similares en ambos brazos. La presencia de efectos adversos y la exclusión por los mismos fue mayor en el grupo BZN vs PL.

Análisis por intención de tratamiento modificado: la incidencia de Eventos Primarios fue igual, 15,2% para cada brazo. La distribución de los Eventos Secundarios fue también similar en BZN y PL.

Análisis por protocolo: Cuando se analizó la población con tratamiento efectivo y seguimiento continuo hasta el periodo 2009-2012 tampoco se observaron diferencias en la distribución de los eventos clínicos primarios y secundarios en BZN y PL, independiente de la negativización serológica y/o parasitológica obtenida.

Eventos serológicos y parasitológicos. El análisis del comportamiento de la ELISAsc, F29 y la qPCR mostró por lo menos dos poblaciones diferentes: el grupo BZN presentó negativización en el 31.7%, 40 % y 90% respectivamente vs PL donde la negativización espontánea fue del 13.3%, 13.5% para ELISAc y F29 respectivamente, y la qPCR del 42% ($p < 0,001$), mientras que el resto del grupo PL mostró homogeneidad en los títulos durante todo el follow-up. Los pacientes que negativizaron en ambos grupos tuvieron bajos títulos en el tiempo 0 vs los positivos. Aproximadamente 50% del brazo BZN redujo los títulos significativamente mientras que un 8-10 % permanecieron positivos con títulos estables. En síntesis, TRAENA a pesar de un claro efecto tripanocida, no disminuyó la morbimortalidad de los pacientes en comparación con PL. Los conceptos "históricos" de cura deben ser revisados a la luz de los nuevos conocimientos.

S6- ESTUDIO BENEFIT, HALLAZGOS E IMPLICACIONES EN LA PRACTICA CLÍNICA

Carlos A. Morillo.

McMaster University, Hamilton, Canadá. E-mail: morillo@hhsc.ca

La cardiopatía Chagásica continua afectando una población significativa en Latino América, y dadas las corrientes migratorias una proporción importante de pacientes infectados con *Trypanosoma cruzi* han migrado a países no endémicos. La etiología de la cardiomiopatía Chagásica permanece materia de discusión pero existe evidencia que sugiere

que la parasitemia crónica persistente puede estar relacionada con la progresión de la cardiomiopatía. Algunos estudios observacionales sugieren que el tratamiento tripanocida reduce la progresión de la cardiomiopatía Chagásica. Sin embargo el papel de la terapia tripanocida con benznidazole en pacientes con cardiomiopatía Chagásica establecida no ha sido evaluada en un estudio multinacional de gran escala. El objetivo principal del estudio BENEFIT fue el de evaluar mediante un estudio aleatorizado si el benznidazole administrado a pacientes con cardiopatía Chagásica temprana reducía la progresión clínica de la cardiopatía. METODOS: Se incluyeron 2854 pacientes de Centro y Sur América (El Salvador, Argentina, Bolivia, Brasil y Colombia) con evidencia de cardiomiopatía Chagásica que recibieron benznidazole o placebo durante un máximo de 80 días y fueron seguidos por un promedio de 5.4 años. El desenlace primario compuesto utilizando el análisis tiempo a evento fue la presencia del primer evento de cualquiera de los siguientes elementos; mortalidad total, muerte súbita resucitada, taquicardia ventricular sostenida, implante de un marcapaso o cardiodefibrilador implantable, episodio de insuficiencia cardiaca, trasplante cardiaco, accidente cerebrovascular o evento embólico sistémico.

RESULTADOS: El desenlace primario ocurrió en 394 pacientes (27.5%) en el grupo aleatorizado a benznidazole y en 414 (29.1%) en el grupo (HR, 0.93; 95% intervalo de confianza [IC], 0.81 - 1.07; P = 0.31). Una muestra de PCR se realizó al momento de la aleatorización en 1896 pacientes; y 60.5% tenían detección de ADN a *Trypanosoma cruzi* a la PCR. La tasa de conversión en toda la población incluida (PCR positivo a negativo) fue del 66.2% en el grupo asignado a benznidazole y 33.5% en el grupo placebo al final del periodo de tratamiento, 55.4% y 35.3%, respectivamente a 2 años, y 46.7% y 33.1%, respectivamente a 5 o más años (P<0.001 para todas las comparaciones). El efecto del tratamiento en la conversión del PCR fue variable de acuerdo a la región geográfica: en Brasil, la razón relativa (RR) para la conversión del PCR fue 3.03 (95% CI, 2.12 to 4.34) a los 2 años y 1.87 (95% IC, 1.33 - 2.63) a los 5 o más años; en Colombia y El Salvador, RR: 1.33 (95% IC, 0.90 - 1.98) a los 2 años y 0.96 (95%IC, 0.63 - 1.45) a los 5 o más años; y en Argentina y Bolivia, RR: 2.63 (95% IC, 1.89 - 3.66) a los 2 años y 2.79 (95% IC, 1.99 - 3.92) a los 5 o más años (P<0.001 para interacción). Sin embargo las tasas de conversión de PCR no fueron paralelas a los efectos en los desenlaces de progresión clínica (P = 0.16 para interacción).

CONCLUSIONES: La terapia tripanocida con benznidazole en pacientes con cardiomiopatía Chagásica establecida redujo significativamente la detección del ADN del *T. cruzi* mediante la conversión de PCR pero no redujo de manera significativa la progresión clínica de la cardiomiopatía Chagásica durante un promedio de seguimiento de 5.4 años. (Financiado por: Population Health Research Institute, Canadian Institutes of Health Research, a grant from the Unicef/WHO-TDR (A30755), Fundacion de Amparo à Pesquisa, Ensino e Assistência, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirao Preto da Universidade de Sao Paulo, y Ministerio de Salud y Fundación Bunge y Born, Argentina. ClinicalTrials.gov number, NCT00123916; ISRCTN13967269). INTERPRETACION: El tratamiento tripanocida con benznidazole administrado por un máximo de 80 días no demostró reducir la tasa de eventos del desenlace primario. Es de notar que la tasa de eventos fue variable en los diferentes países siendo del 30% a 5 años en el grupo placebo en Brasil comparado con 20% en Argentina. La tasa de conversión de la PCR fue superior al 80% en Argentina durante el seguimiento pero este efecto "tripanocida" no se correlaciono con una reducción paralela en la progresión clínica de la cardiomiopatía Chagásica.

S7- USE OF REAL TIME PCR AS SURROGATE MARKER OF THERAPEUTIC RESPONSE:

Alejandro G Schijman.

Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGENI-CONICET. E-mail: schijman@dna.uba.ar

The application of polymerase chain reaction (PCR) to detect *Trypanosoma cruzi* directly in blood samples with high sensitivity and specificity has opened new possibilities for evaluation of trypanocidal chemotherapy (1). However, the application of PCR in the analysis of clinical specimens has revealed highly variable levels of sensitivity and specificity, which could be in part explained by the intermittent presence and quantity of circulating parasites at the time of blood collection. In particular, in patients at the indeterminate and chronic phases of the infection who present low levels of parasitaemia, the blood sample volume has been a decisive factor for PCR sensitivity. On the other hand, the reliability of PCR diagnosis has been often affected by the high rate of false positive results, mostly due to carry over contamination as well as by the occurrence of false negative findings due to interference of inhibitory substances in the blood lysates. The above mentioned considerations have supported international initiatives launched after expert meetings organized by WHO/TDR, PAHO and DNDi.

As part of the Small Grants Programme (Joined initiative of Communicable Diseases Research/ Pan-American Health Organization (PAHO/WHO) and The Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR/UNDP/UNICEF/World Bank/WHO), an international network was conformed, with the coordination of LabMECH at INGENI, in order to generate standard operative procedures for monitoring *T. cruzi* infection in chronically infected patients who could be engaged in clinical trials with new drugs and/or treatment regimens (TDR News, 82, March 2009, pg 30). Two multicentre studies were carried out, the first one to select best performing qualitative PCR methods for detection of *T. cruzi* DNA in peripheral blood samples from chronic Chagas disease cases (2) and the second one to optimize, standardize and validate two quantitative PCR procedures selected in the first study, aiming to determine parasitic loads in such type of specimens and to create standard operative procedures for treatment monitoring using qPCR (SOPs) (3, 4). The SOP included DNA extraction from peripheral blood previously treated with Guanidine Hydrochloride-EDTA buffer using the High Pure PCR Template Preparation Kit from Roche. Two qPCR methods are now available: 1) Satellite DNA (SatDNA) qPCR and 2) kinetoplastid DNA (kDNA) qPCR. Both methods include the use of an internal amplification control (IAC), constructed

at LabMECh, INGEBI that is amplified simultaneously to *T.cruzi* specific DNA using TaqMan probes in a duplex format. Reportable range, analytical sensitivity, limits of detection and quantification, precision and trueness were estimated following international guidelines using human blood spiked with parasite cells. Both methods were challenged against clinical samples provided by laboratories of the network, revealing high concordance in terms of sensitivity and values of parasitic loads.

Sat DNA qPCR has been used to follow up patients recruited in the following clinical trials: TRAENA (5, 6), Chagasazol (<http://clinicaltrials.gov/show/NCT01162967>) and E1224 (<http://www.dndial.org/es/centro-de-documentacion/press-releases/573-e1224.html>). In the TRAENA study, which involved a follow-up of 10 years of patients' cohorts treated with Benznidazole and placebo, qPCR was an earlier indicator of response to BZ than conventional serology; 46.1% of patients became PCR negative 60 days post-treatment, reaching 93.7% of PCR negativation 24 months after treatment, whereas in placebo group PCR negative cases were detected in only 18% and 35% of cases at those periods, respectively. In Chagasazol study (7) follow-up PCR resulted positive in 90% of cases treated with low doses of Posaconazole, in 80% of those receiving high doses, but in only 6% of cases treated with BZ ($p<0.001$). In E1224, at the end of treatment, PCR negativation was 79-91% for E1224, 91% for BZ and 26% for Placebo groups. However, 12 months after treatment, only 8-31% of patients treated with E1224 showed non-detectable parasitic loads compared to 81% with BZ and 8.5% with placebo, indicating treatment failure. Although blood based PCR cannot be a marker of cure, it proved to be a reliable surrogate biomarker of therapeutic failure in short term follow-up trials (E1224 and Chagasazol trials) and of sustained parasitological response to Bz in the long-term follow-up of TRAENA study.

References:

- (1) Pinazo MJ, Thomas MC, Bua J, Perrone A, Schijman AG, et al., 2014. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014 Apr;12(4):479-96.
- (2) Schijman A. G, Bisio M., Orellana L., Sued M., Duffy T., et al., 2011. *PLoS Negl Trop Dis* 5(1): e931.
- (3) Duffy T, Cura CI, Ramirez JC, Abate T, Cayo NM, et al. 2013 *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Jan;7(1).
- (4) Ramirez JC. Cura CI, da Cruz Moreira O, Lages-Silva E, Juiz N, et al, 2015 *J Mol. Diagn* (in press).
- (5) Riarte A. "TRAENA-Placebo- Controlled. ASTMH 62 Annual Meeting 13-17 November 2013.
- (6) Villar JC. Pèrez JG, Cortes, OL, Riarte A, Pepper M, et al. 2014. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Issue 5 Art CD003463.pub 2.
- (7) Molina I, Gómez i, Prat J, Salvador F, Treviño B, et al. 2014. *N Engl J Med*. May 15;370(20):1899-908.

S8- NUEVOS ESQUEMAS TERAPÉUTICOS DE BENZNIDAZOL Y NIFURTIMOX – EVIDENCIAS ACTUALES Y ESTUDIOS PLANEADOS

Isabela Ribeiro.

Drugs for Neglected Disease initiative, Geneva - Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: iribeiro@dndi.org

Mesas Redondas (MR)

MR1- SEÑALIZACIÓN A TRAVÉS DE MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES DE PROTEÍNAS EN TRYPANOSOMÁTIDOS

Coordinadores: Claudio Pereira - Vanina Alvarez

MR1.1- ACETILACIÓN, UNA MODIFICACIÓN POSTRANSKRIPCIONAL QUE INFLUYE EN LA INFECTIVIDAD DE *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Esteban Serra, Victoria Alonso, Romina Manarin, Pamela Cribb, Carla Ritagliati.

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, UNR-CONICET. E mail: eserra@fbioyf.unr.edu.ar

La acetilación de proteínas se ha revelado en los últimos años como una de las modificaciones postranscripcionales más frecuentes, tanto en bacterias como en células eucariotas. Si bien las bases moleculares de su acción no son completamente conocidas, se ha establecido que la acetilación modula importantes procesos celulares como la transcripción, la progresión del ciclo celular, el metabolismo energético y la remodelación del citoesqueleto. En nuestro laboratorio caracterizamos dos deacetilasas de la familia de las sirtuínas: TcSIR2RP1 (citoplasmática) y TcSIR2RP1 (mitocondrial) y tres proteínas con bromodominios: TcBDF1 (glicosomal y nuclear), TcBDF2 (nuclear) y TcBDF3 (citoplasmática). La sobreexpresión de TcSIR2RP1 induce una mayor metacicloogénesis y un aumento de la infectividad en células Vero, mientras que la sobreexpresión de TcSIR2RP3 inhibe el crecimiento de epimastigotes y, en menor medida, de amastigotes intracelulares. Además, los parásitos sobreexpresantes de ambas enzimas son más resistentes a los inhibidores de sirtuínas nicotinamida y cambinol. El estudio de la funcionalidad de los factores con bromodominio se realizó mediante la generación de mutantes con alteración de la capacidad de interactuar con lisinas acetiladas, que funcionan como dominantes negativos inducibles. La expresión de TcBDF3 y TcBDF3 mutado (TcBDF3m) en epimastigotes disminuye la metacicloogénesis y en tripomastigotes afecta de forma opuesta la infectividad, que se ve incrementada con TcBDF3m y disminuida por TcBDF3. En amastigotes, la sobreexpresión de TcBDF3 incrementa su crecimiento intracelular. En cuanto a TcBDF1, su sobreexpresión es deletérea para epimastigotes, pero induce el crecimiento de los amastigotes. Finalmente, la sobreexpresión de TcBDF3 disminuye la sensibilidad de los epimastigotes a inhibidores de bromodominios. Estos resultados revelan que la modulación del acetiloma es esencial para el desarrollo del ciclo de vida de *T. cruzi*.

MR1.2- BOTH INHIBITION AND ACTIVATION OF HISTONE DEACETYLASE ACTIVITY AFFECT *TRYPANOSOMA CRUZI* REPLICATION, DIFFERENTIATION, INFECTIVITY AND GENE EXPRESSION

Vanina A. Campo.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo Ugalde" (IIB-INTECH). Universidad Nacional San Martín. E mail: vcampo@iibintech.com.ar

Histone post-translational modification, mediated by histone acetyltransferases and deacetylases, is one of the most studied factors affecting gene expression. Recent data showing differential histone acetylation states during the *Trypanosoma cruzi* cell cycle suggest a role for epigenetics in the control of this process. As a starting point to study the role of histone deacetylases in the control of gene expression and the consequences of their inhibition and activation in the biology of *T. cruzi*, two inhibitors for different histone deacetylases: trichostatin A for class I/II and sirtinol for class III and the activator resveratrol specific for class III, were tested on proliferative and infective forms of this parasite. The results showed that the two inhibitors tested caused histone hyperacetylation whereas resveratrol showed the opposite effect on both parasite forms, indicating that histones are substrates for these enzymes. Histone deacetylase inhibitors caused life stage-specific effects, increasing trypomastigotes infectivity and blocking metacyclogenesis in a concentration dependent manner. Moreover, these inhibitors differentially affected specific transcript levels, with sirtinol causing the most pronounced change. On the other hand, the HDACs activator resveratrol showed stronger anti-parasitic effects than inhibition. Resveratrol killed the proliferative forms of the parasite, reduced in vitro infection with a concomitant reduction on the expression of trypomastigotes key surface proteins. In addition, this drug blocked differentiation and/or replication of intracellular amastigotes. In conclusion, the data presented here supports the notion that modulation of the histones acetylation state plays a role on *T. cruzi* gene expression. Also, the results presented here point out to Resveratrol as an interesting candidate for further studies on its anti-parasitic effects.

MR1.3- POLY(ADP-RIBOSA) COMO SEÑAL DE MUERTE CELULAR EN TRYPANOSOMAS

Mariana Schlesinger, Salomé C Vilchez Larrea, María L Kevorkian, Mirtha M Flawiá, Silvia Fernández Villamil.

INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina. E mail: silvia.villamil@gmail.com

Poli(ADP-ribosa)polimerasa es la enzima que cataliza la formación de homopolímeros de ADP-ribosa (PAR), fundamentalmente en respuesta a daños al ADN. El metabolismo de PAR es un proceso dinámico y PARG (PAR glicohidrolasa) es la enzima principal en la degradación de dicho polímero. Los tripanosomátidos poseen una única PARP y PARG, cuya localización subcelular es opuesta a la reportada en otras especies. En *T. cruzi* hemos propuesto que la activación de PARP juega un rol dual, asistiendo a los mecanismos de reparación cuando el daño es subletal, mientras que en condiciones de daño letal, PAR podría actuar como un mecanismo de switch entre apoptosis y necrosis, dependiendo del tipo de daño genotóxico. Experimentos llevados a cabo con parásitos procíclicos de *Trypanosoma brucei* silenciados (RNAi-TbPARP) indicaron que la falta de TbPARP no altera la tasa de crecimiento en condiciones normales, confirmando lo propuesto por estudios de RIT-seq. Estos parásitos, sin embargo, exhibieron una sensibilidad disminuida a dosis letales de H₂O₂. Estos resultados sugieren que PAR podría actuar como señal de muerte celular. Para evaluar la importancia de la acumulación de PAR en el núcleo de parásitos expuestos a agentes oxidantes, obtuvimos parásitos procíclicos RNAiTbPARG y sobreexpresantes de TbPARP. Ambos parásitos transgénicos no mostraron alteraciones morfológicas, pero si una disminución de la tasa de crecimiento y una mayor sensibilidad al agente oxidante. Análisis por citometría de flujo con Anexina V e IP mostraron que, cuando dichos parásitos son sometidos a una dosis letal de H₂O₂, se induce un patrón de muerte celular diferente a los parásitos silvestres. La clasificación de los distintos tipos de muerte celular es cada vez más compleja y recientemente se ha reconocido otra forma de muerte celular denominada Parthanatos. Este mecanismo comparte algunas características bioquímicas y morfológicas con otros tipos de muerte celular y se caracteriza por suceder a una rápida activación de PARP con acumulación de PAR en el núcleo. Los resultados sugieren que este tipo de muerte celular podría proceder en tripanosomas.

MR1.4- THE ROLE OF TRANSLATION INITIATION FACTOR EIF2A IN *TRYPANOSOMA BRUCEI* LIFE CYCLE

Carla Cristi D. C. Avila⁽¹⁾, Lori Peacock^(2,3), Wendy Gibson⁽³⁾, Sergio Schenkman⁽¹⁾, Mark Carrington⁽⁴⁾ and Beatriz A. Castillo⁽¹⁾

⁽¹⁾Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil,

⁽²⁾Department of Clinical Veterinary Science, University of Bristol, UK, ⁽³⁾School of Biological Sciences, University of Bristol, UK, ⁽⁴⁾Department of Biochemistry, Tennis Court Road, Cambridge, UK. E-mail: carla.cristi@gmail.com

Trypanosomes life cycles consist of a series of cyclic changes giving raise to developmental forms, each adapted to an environment in the relevant insect and/or mammalian host. These changes happen through well regulated differentiation processes. In *Trypanosoma brucei* the differentiation from the mammalian bloodstream form to the insect midgut procyclic form has been studied with some detail and occurs in two steps: first proliferating bloodstream forms (slender) differentiate to non-dividing forms (stumpy); and second, in response to environmental cues, stumpy bloodstream forms re-starts the proliferation as procyclic forms. During this process, a global cell remodeling occurs through a global re-programming of protein expression. In eukaryotes, one mechanism used to regulate the overall rate of protein synthesis involves phosphorylation of the alpha subunit of initiation factor eIF2 (eIF2 α). To investigate the possible participation of the phosphorylation of eIF2 α in the bloodstream to procyclic forms, a cell line was developed with a single modified version of eIF2 α gene containing a mutation in the canonical Threonine 169 phosphorylation site, in such a way that the protein product was not-phosphorylatable in this position. The phenotype of these cells was analyzed in terms of differentiation from proliferating bloodstream forms into stumpy forms in mice and into procyclic forms *in vitro* and in tsetse flies. The obtained results showed that the phosphorylation of eIF2 in position 169 does not affect the analysed aspects of *T. brucei* cell cycle.

MR2- ECO-EPIDEMIOLOGÍA DE ENFERMEDADES VECTORIALES

Coordinadora: Soledad Santini

MR2.1- LEISHMANIASIS EN ÁREAS FITOGEográfICAS DE YUNGAS Y CHAQUEÑA, ARGENTINA

Juan Rosa⁽¹⁾, Enrique A Szlag^(1,2,5), Matías A Parras^(1,2,5), María G Quintana^(2,3,5), Lilian Zorzo⁽⁴⁾, Verónica Vargas⁽⁴⁾, Oscar D Salomón^(2,5).

⁽¹⁾Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste. Nodo REDILA (Red de Estudios de Investigación de la Leishmaniasis en Argentina), Chaco. ⁽²⁾Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT), Misiones. ⁽³⁾Instituto Superior de Entomología, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán (INSUE-UNT/REDILA). ⁽⁴⁾Dirección de Epidemiología, Ministerio de Salud Pública, Chaco (MSChaco). ⁽⁵⁾CONICET. E mail: juan_rosa05@yahoo.com.ar

La leishmaniasis es una zoonosis parasitaria causada por flagelados quinetoplastídicos del género *Leishmania* con expresión clínica a nivel cutáneo y/o mucoso (LT) y visceral (LV) transmitida por la picadura de hembras de flebotomos (Diptera:Phlebotominae). La distribución mundial de casos y vectores incluye el norte de Argentina. De las 23 especies de *Leishmania* conocidas, en el país se registraron cuatro: (*Le. amazonensis*, *Le. guyanensis*, *Le. panamensis* y *Le. braziliensis* causantes de LT y *Le. infantum* (Syn. *chagasi*), de LV. *Leishmania braziliensis* se identificó con mayor frecuencia en humanos y en flebotomos; entre éstos, *Nyssomyia neivai* (Tucumán/Salta), *Ny. whitmani* y *Micropigomyia quinquefer* (Misiones) y del complejo *cortelezzii* (Chaco). En investigaciones eco-epidemiológicas coordinadas con el sistema de salud local y los diferentes nodos REDILA, se desarrollan estudios transversales, longitudinales y de vigilancia. Es así que en Yungas y áreas de transición, se registran actualmente 10 especies de flebotomos (INSUE-UNT/REDILA-INMeT, CeNDIE-MSN) en Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca y Santiago del Estero. En ésta, *Migonemyia migonei* es considerado vector putativo de LV asociado a casos humanos y caninos. En 2013 se registró por primera vez en el NOA al vector de LV, *Lutzomyia longipalpis*, en el Departamento San Martín, Salta (Fundación Mundo Sano/REDILA), sin casos humanos ni caninos. En la región chaqueña, en Chaco actualmente se describen 10 especies de flebotomos. En las áreas de transmisión activa de chaco seco se identificó *Le. (Viannia) braziliensis* (PCR-Western Blot-FIOCRUZ-RJ, Brasil) en humanos y flebotomos (complejo *cortelezzii*). En áreas de transición, en humanos (IMR-UNNE); la infección natural de flebotomos actualmente está en etapa de estudio (Lab.Biol.Molec.Aplicada-LABIMAP). En 2010 se registró por primera vez *Lu. longipalpis* en Resistencia y Colonia Benítez (Chaco húmedo) con casos caninos importados en 2011. Actualmente se diagnosticaron perros con LV (diagnóstico parasitológico e inmunológico (inmuncromatografía rK39 *Leishmania chagasi*) (Dirección Epidemiología, MSChaco) en chaco húmedo con presencia de *Lu. longipalpis* sin colonización ni expansión desde 2010. No se notificaron casos humanos de LV.

MR2.2- TRIATOMA VIRUS: SU PROPAGACIÓN Y DISTRIBUCIÓN EN LATINOAMÉRICA

Gerardo Marti⁽¹⁾, A Balsalobre⁽¹⁾, S Ceccarelli⁽¹⁾, ML Susevich⁽¹⁾, P Medone⁽¹⁾, MG Echeverría⁽²⁾.

⁽¹⁾Centro de Estudios Parasitológico y de Vectores (CEPAVE) (CCT-La Plata-CONICET-UNLP). ⁽²⁾ Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). E-mail: gmarti@cepave.edu.ar

Triatoma virus (TrV) es un virus entomopatógeno aislado e identificado en varias especies de triatomos en domicilios, peridomicilios y en condiciones silvestres. Cuando los insectos colectados en el campo son incorporados a los insectarios pueden infectar los triatomos residentes con TrV a través de la transmisión horizontal. Principalmente se debe a que se utilizan los mismos animales (gallinas, palomas, ratones, etc.) para alimentar todos los insectos, y por no esterilizar adecuadamente los materiales como recipientes y pinzas metálicas utilizadas en el manejo de las colonias. Hasta el momento TrV se ha encontrado en dos insectarios de Argentina y en un insectario de Brasil, pero posiblemente se encuentre en otros países. El peligro de desconocer la presencia del mismo podría repercutir en los resultados obtenidos en pruebas de laboratorio, ya que el virus retrasa la muda así como también aumenta la mortalidad de los triatomos. A partir de mapas de la potencial distribución de TrV en Argentina se observa que las ecorregiones de Chaco seco y del Monte son los principales focos de ocurrencia del virus, aunque su potencial rango de distribución abarca desde el centro al norte de nuestro país. En otro trabajo se ha demostrado que ninfas de quinto estadio de *T. infestans* al ingerir partículas virales de TrV, se detecta su presencia en la materia fecal mediante RT-PCR en un tiempo promedio de $41,3 \pm 16,4$ días. Asimismo se calculó la transmisión horizontal en un tiempo promedio de infección de $42,5 \pm 18,1$ días. Estos resultados ayudan a entender la distribución y la propagación de TrV en los insectarios. Los resultados obtenidos nos permiten realizar recomendaciones cuando se incorporan insectos de campo al insectario, como por ejemplo: los insectos colectados principalmente en la región sur del chaco seco deberían permanecer en cuarentena durante 50-60 días antes de la incorporación de los mismos y se deberían alimentar con un alimentador artificial o con animales que se mantengan aislados de los demás. Luego de transcurrido este periodo de tiempo, y debido a la alta sensibilidad de la técnica RT-PCR se puede verificar la presencia de TrV utilizando una sola muestra obtenida de un "pool" de heces del contenedor donde se crían los insectos. También se puede corroborar la presencia del mismo mediante una purificación de las materias fecales realizando un gradiente de sacarosa y una electroforesis, detectando fácilmente las proteínas del TrV. De esta manera se puede confirmar fácilmente la ausencia de este virus y así asegurar una buena salud de todas las colonias. Estos estudios están financiados por: PIP-0007, PICT 2014-1536, 14/V221 FCV-UNLP.

MR2.3- ASPECTOS ECOLÓGICOS Y SOCIALES DE LA INFESTACIÓN POR TRIATOMA INFESTANS EN COMUNIDADES INDÍGENAS DEL CHACO ARGENTINO: SIETE AÑOS DE SEGUIMIENTO

M Sol Gaspe, Yael M Provecho, M Pilar Fernández, M Victoria Cardinal, Ricardo E Gürtler.

Laboratorio de Eco-Epidemiología, IEGEBA-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. E mail: solgaspe@ege.fcen.uba.ar

Las enfermedades tropicales desatendidas (NTDs) son un serio problema de salud pública afectando fundamentalmente a las poblaciones más vulnerables. Entre estos grupos suelen encontrarse las comunidades indígenas, con alta exposición a

estas y otras enfermedades. Ciertas combinaciones de determinantes ecológicos, sociales, políticos y económicos explicarían la ocurrencia de *hotspots* de NTDs a nivel global, uno de los cuales se localiza en el Gran Chaco con altas tasas de transmisión de la enfermedad de Chagas a través de *Triatoma infestans*. Se realizó un estudio longitudinal detallado durante 7 años en una zona rural bien definida del Municipio de Pampa del Indio, Chaco habitada principalmente por familias qom (toba) para evaluar el efecto de una intervención masiva de rociado de las viviendas e identificar los determinantes ecológicos y sociales asociados a la presencia de *T. infestans* en las mismas. Esta área incluía unas 400 viviendas en las cuales se realizaron relevamientos ambientales, socio-demográficos y entomológicos en la línea de base y periódicamente luego del rociado masivo. La infestación de las viviendas por *T. infestans* en el estudio de base realizado en octubre de 2008 (31,9%) fue menor a la esperada dada la ausencia de intervenciones de control reciente y se halló principalmente en los domicilios. La alta tasa de movilidad de las familias qom dentro del área de estudio junto con una gran proporción de viviendas de construcción reciente podrían estar asociadas con esta menor prevalencia de infestación observada. El clima educativo del hogar y el grado de hacinamiento, junto con variables ecológicas (disponibilidad de refugio, hospedadores y ausencia de insecticidas) presentaron alta importancia relativa en relación a la presencia y abundancia de *T. infestans* en los domicilios, a través de un abordaje de inferencia multimodelo. Las poblaciones de insectos colectadas en el estudio de base presentaron una susceptibilidad disminuida a los piretroides en ensayos de laboratorio. Sin embargo, los porcentajes de infestación luego del rociado masivo resultaron menores al 1% y en abril de 2015 no se halló ninguna vivienda infestada. Además, la notificación de los moradores sobre la presencia de vectores en sus viviendas a lo largo de todo el estudio convalidaron los bajos porcentajes de infestación hallados. Estos resultados contrastan fuertemente con los patrones de reinfestación hallados en otras áreas rurales del mismo municipio donde se aplicaron protocolos de intervención muy similares. Esta heterogeneidad en el impacto de las intervenciones ejemplifica una de las dificultades del control de la transmisión vectorial de esta enfermedad. Es necesario diseñar estrategias integrales adaptadas localmente y basadas en la participación de las comunidades de manera de lograr la sostenibilidad de los logros alcanzados.

MR2.4- ¡CUIDADO! MODELOS DE RIESGO DE TRANSMISIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES

Anibal E Carbajo.

Ecología de Enfermedades Transmitidas por Vectores, Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de San Martín. E-mail: acarbajo@unsam.edu.ar

El estudio espacial de los casos de enfermedades así como de sus vectores u hospedadores ha sido de reconocida importancia desde comienzos del siglo XIX. En los últimos años han proliferado los estudios espaciales de riesgo de transmisión de enfermedades como así también los de distribución geográfica de especies. El modelado de la distribución de especies se suele enmarcar en el mapeo de nichos ecológicos, donde se delimitan para múltiples variables ambientales, los rangos de valores dentro de los cuales la especie puede existir. Algunos modelos de riesgo, se enmarcan en la epidemiología de paisajes, donde se considera que la transmisión de las enfermedades es el producto de una combinación de factores ambientales físicos, climáticos, biológicos y sociales determinados, que coinciden en tiempo y espacio. Ambos marcos teóricos permiten una aproximación metodológica similar, ya sea para modelar la distribución de casos de enfermedades o la ocurrencia de la especie. En la presentación se discuten los cuidados que deben prestarse y los problemas frecuentes a la hora del modelado espacial en función de la información disponible, los conocimientos previos, del objetivo, etc. También se discute sobre la vinculación de estos estudios al cambio global.

MR3- ASPECTOS DE LA RELACIÓN PARÁSITO - HUÉSPED

Coordinador: Juan Mucci

MR3.1- LA PROTEÓLISIS INTRAMEMBRANA DE LA PROTEINA AMA1 DE TOXOPLASMA FACILITA LA INVASIÓN DE LA CÉLULA HUÉSPED Y NO ES INDISPENSABLE PARA LA REPLICACIÓN

Fabiola Parussini^(1), Qing Tang⁽¹⁾, Syed M Moin⁽²⁾, Jeffrey Mital⁽¹⁾, Sinisa Urban⁽²⁾, Gary E Ward⁽¹⁾.*

*⁽¹⁾Departamento de Microbiología y Genética Molecular, Universidad de Vermont, Estados Unidos. ⁽²⁾Departamento de Biología Molecular y Genética, Instituto Médico Howard Hughes, Universidad Johns Hopkins, Baltimore, Estados Unidos. *Dirección actual: Instituto de Estudios Celulares, Genéticos, y Moleculares, Universidad Nacional de Jujuy, y Centro de Investigación y Transferencia Jujuy-CONICET, Argentina. E mail: fabiparu@hotmail.com*

Los apicomplexas son un grupo de parásitos protistas, algunos de los cuales tienen significancia médica y veterinaria, tales como *Plasmodium sp.*, *Toxoplasma*, y *Cryptosporidium*. El proceso de invasión de la célula huésped por los parásitos apicomplexas comprende múltiples pasos que incluyen: movilidad dependiente de sustrato, **asociación débil** seguida por

una unión adherente con la célula huésped, reorientación del polo apical del parásito hacia la superficie de la célula huésped, descarga del contenido de organelas secretorias, formación de una unión fuerte y estrecha entre las membranas plasmáticas del parásito y la célula huésped, y penetración del parásito en el interior de la célula huésped. Un componente clave de la maquinaria de invasión es el Antígeno 1 de Membrana Apical (AMA1), una proteína integral de membrana con topología tipo I que se conserva en el Phylum Apicomplexa. La proteína AMA1 de *Toxoplasma gondii* (TgAMA1), durante el proceso de invasión de la célula huésped, se secreta sobre la superficie del parásito, y su ectodominio posteriormente es liberado por un clivaje proteolítico en su segmento transmembrana. Para elucidar la función de la proteólisis intramembrana de TgAMA1, usamos un ensayo reconstituido en células COS para caracterizar los determinantes en la secuencia de aminoácidos del segmento transmembrana de TgAMA1 (ALIAGLAVGGVLLALLGGGCYFA) que gobiernan su procesamiento proteolítico mediado por proteasas Romboides (ROM). Los análisis cuantitativos de actividad revelaron que la mutación TgAMA1^{L/G} estimuló el clivaje, que fue 13 veces mayor que TgAMA1^{WT}. En contraposición, la mutación TgAMA1^{AG/FF} redujo 30 veces el procesamiento, mientras que la mutación TgAMA1^{GG/FF} tuvo un efecto minoritario en el mismo, y la mutación de ambos motivos TgAMA1^{AG/FF+GG/FF} bloqueó completamente el procesamiento. Luego, complementamos una línea de parásitos TgAMA1^{KD} (KD: knockdown condicional) con plásmidos que expresan estas variantes de la proteína TgAMA1. Contrario a lo esperado, las mutantes que incrementan o disminuyen el procesamiento de TgAMA1 por más de 10 veces no provocaron consecuencias fenotípicas, lo cual reveló que los niveles de proteólisis dependiente de proteasa Romboides en los parásitos no están altamente regulados. Solo, parásitos transgénicos que expresan o contienen en sus genomas un alelo de la mutante no clivable TgAMA1^{AG/FF+GG/FF} presentó un crecimiento defectuoso, que es el resultado de una eficiencia reducida de invasión de la célula huésped, sin la perturbación de la replicación intracelular. Estos datos demuestran que el procesamiento intramembrana de TgAMA1 desempeña un rol en la invasión, pero refuta un modelo propuesto en forma reciente en el cual la replicación intracelular del parásito es regulada por el procesamiento intramembrana de TgAMA1 mediado por TgROM4.

MR3.2- EFICACIA DE UNA VACUNA EXPERIMENTAL DE SUBUNIDADES PROTEICAS PARA LOGRAR PROTECCIÓN CONTRA LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI*

Iván A Bontempi⁽¹⁾, Gabriel Cabrera⁽¹⁾, Miguel H Vicco⁽¹⁾, Silvina R Villar⁽²⁾, Florencia B González⁽²⁾, Eduardo A Roggero⁽²⁾, Paul Ameloot⁽³⁾, Nico Callewaert⁽³⁾, Ana R Pérez⁽²⁾, Iván S Marcipar⁽¹⁾.

⁽¹⁾Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. ⁽²⁾IDICER-CONICET e Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. ⁽³⁾Medical Biotechnology Unit, Inflammation Research Center and Department of Biochemistry and Microbiology, Ghent University, Belgium. E mail: imarcipr@fbc.unl.edu.ar

Estudios preclínicos de vacunas, indican que la inmunización profiláctica para el control de la infección por *T. cruzi* podría tener efectos beneficiosos para prevenir el desarrollo de la enfermedad. Asimismo, una administración terapéutica podría permitir revertir los daños asociados a la infección. Actualmente, los candidatos vacunales que acceden en forma más rápida a pruebas clínicas son aquellos basados en subunidades proteicas formuladas con adyuvantes habilitados. Sin embargo, ese enfoque ha sido poco explorado en vacunas contra *T. cruzi*, por lo que en nuestro grupo nos hemos propuesto avanzar en esa dirección. En una primera instancia evaluamos una nueva la formulación basada en una proteína trans-sialidasa glicosilada inactiva (MTS), que puede ser producida en *Pichia pastoris* en cantidad y calidad requerida para uso en producción. Como adyuvante utilizamos ISCOMATRIX (IMX), que ha demostrado ser eficaz y seguro en los ensayos clínicos humanos de vacunas destinadas a controlar otras infecciones intracelulares. Evaluamos la formulación inmunizando ratones Balb/c con tres dosis sucesivas. Los ratones inmunizados con MTS-IMX mostraron una respuesta humoral TS-IgG específica con títulos mayores a 10⁶ y de alta avidéz, un aumento de la relación IgG2a/IgG1 y significativa hipersensibilidad de tipo retardado (DTH). Quince días luego de la última inmunización, el estímulo in vitro de esplenocitos con el antígeno TS gatilló una marcada respuesta de IFN γ e IL10 en el grupo MTS-IMX en comparación con ratones inmunizados sólo con MTS o IMX o vehículo (PBS). Luego de un desafío con 1000 tripomastigotes de *T. cruzi*, todos los ratones inmunizados con MTS-IMX sobrevivieron, mientras que los ratones inmunizados con solo MTS, IMX o PBS presentaron un alta mortalidad (mayor al 60%). Durante la infección aguda, la parasitemia de los ratones inmunizados con MTS-IMX fue al menos 50 veces menor en comparación con los ratones control. A nivel cardiaco se determinó una carga parasitaria de 4,5 veces menor, infiltrados y lesiones inflamatorias disminuidas, tanto en la fase aguda como en fase crónica. Estos resultados indican que una formulación de subunidades recombinantes puede permitir protección contra la infección por *T. cruzi* sin necesidad de recurrir a las plataformas, mayoritariamente evaluadas hasta la fecha, de ADN desnudo o virus recombinantes que son considerados menos seguras por las agencias reguladoras. Debido a que la producción del adyuvante comercial ISCOMATRIX ha sido discontinuada, hemos desarrollado un adyuvante basado en los componentes activos del mismo, logrando niveles de protección iguales a los antes descritos en el modelo de infección estudiado. Proyectamos continuar trabajando en esta línea complementando la formulación con un nuevo antígeno para lograr una prevención profiláctica esterilizante y estudiando la eficacia de la formulación para un uso terapéutico en la fase crónica de la infección.

MR3.3- EXOSOMAS: NUEVOS MENSAJEROS INVOLUCRADOS EN LA PATOGENESIS DE *TRICHOMONAS VAGINALIS*

Natalia de Miguel.

IIB-INTECH, Chascomus, Buenos Aires, Argentina. E mail: ndemiguel@intech.gov.ar

Trichomonas vaginalis es un parásito que coloniza el tracto urogenital humano y causa la infección de transmisión sexual no viral más difundida del mundo. La misma es una infección crónica no mortal pero de serias consecuencias, tales como infertilidad tanto en hombres como mujeres, partos prematuros, una mayor susceptibilidad a la infección por VIH y como factor de riesgo para el desarrollo del cáncer cervical y prostático. Aunque se sabe que la adhesión y la citotoxicidad de *T. vaginalis* son propiedades de virulencia necesarias, los mecanismos utilizados para el desarrollo y mantenimiento de la infección dentro del hospedador están pobremente estudiados. Teniendo en cuenta que *T. vaginalis* es un parásito extracelular, es lógico suponer que las proteínas de superficie se encuentran implicadas en adherencia y citotoxicidad. En este sentido, nuestro grupo ha determinado el proteoma de superficie de seis cepas del parásito que difieren en cuanto a su capacidad de adherencia y citotoxicidad a la célula hospedadora e identificamos proteínas expresadas diferencialmente entre cepas. Estudios recientes de nuestro grupo sugieren que la expresión de estos genes, y la virulencia del parásito, estarían regulados por mecanismos epigenéticos. Por otra parte, a partir del proteoma de superficie identificamos una proteína tetraspanin, TSP1, que se encuentra localizada en la superficie y en exosomas. El estudio de los exosomas ha adquirido un creciente interés debido a que se ha demostrado que estas microvesículas son capaces de mediar la comunicación entre células. Nuestros resultados demuestran que los exosomas secretados por *T. vaginalis* poseen tanto proteínas conservadas como otras presentes únicamente en este parásito así como también ARNs pequeños. Además, los exosomas secretados por el parásito interaccionan y descargan su contenido en las células epiteliales de vagina, poseen propiedades inmunomoduladoras y aumentan la adhesión a las células hospedadoras. Estos datos abren un nuevo campo de investigación acerca de la importancia de los exosomas en el mecanismo de infección de *T. vaginalis* ya que los resultados aquí presentados sugieren que las microvesículas secretadas tendrían un papel importante en la comunicación celular.

MR3.4- THE USE OF IN-SILICO TOOLS AS A GUIDE FOR RATIONAL T CELL EPITOPE DISCOVERY: LESSONS LEARNED FROM LARGE DATA SET

Morten Nielsen.

Center for Biological Sequence Analysis, Department of Systems Biology, The Technical University of Denmark, Denmark. Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín, Buenos Aires, Argentina. Email: mniel@cbs.dtu.dk

The immune system reacts to foreign molecules in a highly specialized manner. T cells play a central role in the cell-mediated immunity. T cells scrutinize small peptide fragments, also called epitopes, presented in complex with major histocompatibility complexes (MHCs) on the surface of most cells in the host. Cytotoxic T cells kill cells that present peptides of foreign or abnormal origin. T helper cells, on the other hand, orchestrate the immune response by simulating other immune cells. Identifying which peptides will be presented in complex with a given MHC molecule therefore is of pivotal importance for understanding cellular immunity.

In my talk, I will give an overview of the advances during the last decade in bioinformatics prediction methods for rational epitope discovery and demonstrate how these advances combined with high throughput and accurate data generation has allowed us to arrive at very simple yet highly precise models for prediction of peptide T cell immunogenicity applicable to any type of pathogen infection.

While these models are precise they are not perfect. In particular for pathogens with large proteomes like bacteria and parasites, remains epitope identification a challenge. In the end of my talk, I will discuss in some detail these challenges, outline one approach to deal with these challenges, and some preliminary results of applying the approach for the identification of T cell epitopes in the proteome of *T. cruzi*.

MR4- BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR DE PARÁSITOS HELMINTOS: CLAVES PARA COMPRENDER SU BIOLOGÍA Y POTENCIALES APLICACIONES AL CONTROL

Coordinadores: Henrique Ferreira y Mara Rosenzvit

MR4.1- COMPARATIVE AND FUNCTIONAL PROTEOMICS OF ECHINOCOCCUS SPP.

Karina R Lorenzatto⁽¹⁾, Karina M. Monteiro⁽¹⁾, Aline Teichmann⁽¹⁾, João A Debarba⁽²⁾, Guilherme B dos Santos⁽²⁾, Jeferson C de Lima⁽¹⁾, Arnaldo Zaha⁽²⁾, Henrique B Ferreira^{(1,2)}.*

⁽¹⁾Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

⁽²⁾Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos, CBiot, UFRGS; Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: henrique@cbiot.ufrgs.br

Echinococcus spp. metacestode larval forms (hydatid cysts or vesicles) cause different forms of echinococcosis and are good models for the study of long-term parasite-host interactions. The *Echinococcus granulosus* complex of cryptic species, which causes cystic echinococcosis (CE), and *Echinococcus multilocularis*, which causes alveolar echinococcosis (AE), are the most relevant species in the genus in terms of human and animal public health. Previously, our research group performed prospective proteomic studies to characterize the *E. granulosus* protein repertoires of different metacestode components, namely the germinal layer, protoscoleces (pre-adult forms), and hydatid fluid (containing parasite's excretion-secretion – ES – products). Especially in the hydatid fluid, several host proteins were also identified, providing clues on processes relevant for the immunopathogenesis of CE. Here, we report part of the work in progress in our laboratory, comprehending comparative and functional proteomic studies focused in aspects that range from metacestode fertility and host preference to protoscolex development and post-translational modifications (PTMs). Comparative proteomic analyses were carried out to identify differences between hydatid fluid (ES products) of *E. granulosus* and *E. multilocularis*, whose metacestodes are adapted to different host species and/or present developmental differences. A similar approach was used to compare ES products from *E. granulosus* fertile and sterile cysts, in order to identify possible fertility markers. A methionine analog (4-azide-L-homocysteine) was used to investigate newly synthesized proteins, which allowed the identification of several proteins expressed upon protoscolex activation by pepsin. *E. granulosus* 14-3-3 protein family members were also studied in order to identify the protein partners of the four 14-3-3 isoforms expressed by the metacestode, providing insights on their shared and exclusive protein ligands and associated biological functions. Top-down proteomic approaches are being used to investigate unique protein forms (proteoforms) in *E. granulosus* protoscoleces subcellular fractions. Along with a complementary bottom-up approach, the performed top-down strategy provided the first description of the low mass (>30 kDa) proteome of *E. granulosus* nuclear and cytosolic fractions and highlighted several parasite proteoforms with PTMs. So far, the results provided by our proteomic studies of *Echinococcus* spp. allowed to identify several molecules that are likely important for parasite survival, virulence and/or development. We also paved the way for the investigation of *Echinococcus* proteoforms with PTMs, whose characterization is expected to lead to another level of understanding about molecular mechanisms controlling parasitic flatworm biology. Moreover, several of the identified proteins are potential developmental markers, drug-targets, and/or diagnostic and vaccine antigens for CE and/or AE.

Financial support: CAPES, CNPq and FAPERGS.

MR4.2- LAS CÉLULAS MADRE DEL CESTODO *ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS*, UN PARÁSITO INMORTAL

Uriel Koziol⁽¹⁾, Klaus Brehm⁽²⁾

⁽¹⁾Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. ⁽²⁾Institute for Hygiene and Microbiology, University of Würzburg, Germany. E-mail: ukoziol@gmail.com

En cestodos, se cree en base a estudios clásicos que la única fuente de proliferación celular es una población de células madre indiferenciadas, llamadas “células germinativas”, similares a las células madre pluripotentes (neoblastos) encontradas en platelmintos de vida libre. Sin embargo, las células madre de cestodos no habían sido estudiadas con métodos modernos, y nada se sabía en cuanto a su posible heterogeneidad y a sus patrones de expresión génica. En esta presentación, se resumirán nuestros estudios sobre las células madre de la larva de *Echinococcus multilocularis*, que es capaz de infectar al ser humano (y está estrechamente emparentada con *E. granulosus*, un parásito humano que afecta en forma endémica al cono sur de Latinoamérica). Esta larva crece continuamente como una masa de vesículas que infiltran los tejidos del hospedador, generando a su vez por gemación asexual los protoescolices (la forma larvaria infectiva para el hospedador definitivo). Tras desarrollar por primera vez marcadores moleculares para las células germinativas y para diversos tipos de células diferenciadas en *E. multilocularis*, demostramos que en efecto las células germinativas son las únicas células capaces de proliferar, y que las células diferenciadas se originan a partir de esta población de células madre indiferenciadas. Sin embargo, la población de células germinativas de *E. multilocularis* es heterogénea en cuanto a su expresión génica, ya que sólo sub-poblaciones específicas expresan homólogos de los reguladores post-transcripcionales *nanos* y *argonaut*. Esto sugiere que existen diferentes linajes de células madre en *Echinococcus*, tal vez con diferentes potencialidades. A partir de análisis clonales de las células proliferantes en larvas de *E. multilocularis*, demostramos que al menos una parte de las células germinativas muestran una capacidad extensa de auto-renovación, como es de esperar de células madre auténticas. A pesar de las similitudes en morfología y función entre las células germinativas de *E. multilocularis* y las células madre de otros platelmintos, observamos diferencias importantes en sus patrones de expresión génica, y de hecho, muchos marcadores típicos de células germinales y células somáticas pluripotentes (como *piwi* y *vasa*) se encuentran ausentes del genoma de *E. multilocularis* y otros cestodos. Estos genes tienen funciones conservadas en el control de elementos transponibles en otros animales, pero a pesar de su ausencia, existen muy pocos de estos elementos en el genoma de *E. multilocularis*. Esto sugiere que existen mecanismos moleculares alternativos para su represión y control. Finalmente, demostramos la existencia de una nueva familia de retrotransposones no-autónomos en *E. multilocularis* y especies cercanamente emparentadas, que no son reprimidos en forma eficiente, y que se expresan en forma masiva y específica en las células germinativas.

MR4.3- NUEVO GENOMA DE UNA ESPECIE DESATENDIDA CAUSANTE DE HIDATIDOSIS QUÍSTICA: *ECHINOCOCCUS CANADENSIS*

Lucas L Maldonado⁽¹⁾, Juliana Assis⁽²⁾, Flávio Gomes Araújo⁽²⁾, Izinara Rosse⁽²⁾, Natalia Macchiaroli, Marcela Cucher⁽¹⁾, Mara Rosenzvit⁽¹⁾, Guilherme Oliveira⁽²⁾, Laura Kamenetzky⁽¹⁾.

⁽¹⁾IMPAM, CONICET, Facultad de Medicina – UBA. ⁽²⁾CEBio - CPqRR – Fundación Oswaldo Cruz, Minas Gerais, Brazil. E-mail: lkamenetzky@fmed.uba.ar

Echinococcus canadensis es un parásito platelminto de la clase Cestoda perteneciente al complejo de especies de *Echinococcus granulosus sensu lato* causantes de la echinococcosis quística, enfermedad considerada desatendida por la OMS. En Sudamérica circulan tres especies pertenecientes a este complejo: *Echinococcus granulosus sensu stricto* (s. s.), *Echinococcus canadensis* y *Echinococcus ortleppi*. En humanos del Cono Sur de América, las especies más frecuentes son *E. granulosus* s. s. y *E. canadensis*. Si bien ambas especies causan echinococcosis unilocular no pueden distinguirse macroscópicamente en cuanto a la morfología de los quistes y durante muchos años fueron consideradas la misma especie. Nuestro grupo así como otros grupos aplicaron sistemáticamente técnicas de tipificación en conjunto con estudios de desarrollo logrando determinar que estas especies difieren en características de importancia como ser especificidad de hospedador intermediario, desarrollo de quistes en infecciones experimentales, antigenicidad, infectividad y patogenia en humanos. Recientemente el grupo de Genómica de Parásitos del Instituto Sanger Wellcome Trust ha secuenciado los genomas de *Echinococcus granulosus* s. s. (G1) y *Echinococcus multilocularis* (causante de echinococcosis alveolar). Nuestro grupo ha colaborado en su análisis y anotación siendo el primer trabajo sobre genomas completos de parásitos cestodes. Actualmente, en el marco del consorcio Argentina-Uruguay-Brasil sobre estudios x-ómicos de parásitos platelmintos (FlatDB) hemos obtenido el genoma completo de *Echinococcus canadensis* genotipo G7 (<http://parasite.wormbase.org>) y realizado una exhaustiva anotación y análisis de regiones codificantes y no codificantes. Hemos determinado que el genoma de *E. canadensis* presenta alto grado de sintenia con *Echinococcus granulosus* s. s. y *E. multilocularis* y posee grupos de genes ortólogos específicos de cestodes. Este conjunto de genes es de particular importancia para la selección de genes blancos de drogas o vacunas dado que se encuentran ausentes en todas las especies de hospedadores. Asimismo, el análisis de SNPs sobre los genomas completos mostró una tasa de sustituciones sinónimas mayor que las no sinónimas entre las tres especies de *Echinococcus*. De manera interesante, se observó que la tasa de sustituciones no sinónimas entre *E. canadensis* y *E. granulosus* s. s. es mayor a la observada entre *E. canadensis* y *E. multilocularis*. Este resultado refuerza la clasificación de *E. canadensis* como una especie filogenéticamente diferente a *E. granulosus* s. s. y pone de manifiesto la necesidad de enfocar la investigación y desarrollo a cada especie de *Echinococcus* en particular. La anotación y análisis de expresión de RNAs no codificantes permitió identificar y cuantificar pre-microRNAs y elementos repetidos de *E. canadensis* que podrían estar involucrados en el desarrollo del parásito. La integración de los datos de variación genética con la función de cada región genómica asociada nos brindará un mapa completo de similitudes y diferencias entre las dos especies principales que circulan en la Argentina y la región del Cono Sur de América. Esta información podrá ser aplicada al desarrollo de métodos diagnósticos, prevención y control de la echinococcosis quística.

MR4.4- PROTEÍNAS NUEVAS QUE UNEN LÍPIDOS DE NEMATODES PARÁSITOS. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y EVALUACIÓN COMO BLANCOS TERAPÉUTICOS Y MARCADORES DIAGNÓSTICOS

Gisela R Franchini⁽¹⁾, Marina Ibáñez-Shimabukuro⁽¹⁾, M Florencia Rey⁽¹⁾, Julián A Belgamo⁽¹⁾, A Nahili Giorello⁽¹⁾, Marcos Butti⁽²⁾, Nilda A Radman⁽²⁾, Brian Smith⁽³⁾, Malcolm W Kennedy⁽³⁾, Betina Córscico⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, UNLP. ⁽²⁾Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias, Cátedra de Parasitología Comparada, Fac. de Veterinaria, UNLP. ⁽³⁾Institute of Biomedical & Life Sciences, University of Glasgow, United Kingdom. E-mail: gfranchini@conicet.gov.ar

Los parásitos helmintos, en general, presentan ciertas limitaciones en su metabolismo lipídico, y en algunos casos carecen de las rutas de síntesis de ácidos grasos y esteroides. Estos organismos dependen por tanto, del suministro de estos nutrientes desde sus hospedadores para ser incorporados en lípidos complejos, utilizarlos como fuente de energía y mantener mecanismos de señalización. De manera reciente se ha descubierto una gran variedad de proteínas que unen lípidos (LBPs) producidas por nematodos parásitos, las cuales son prominentes por su rol inmunodominante en los distintos tipos de infecciones. Si bien no se conoce con exactitud las funciones de las mismas, se postula que estas proteínas podrían estar involucradas en la captación de los lípidos desde el hospedador, así como en la modulación del entorno tisular local del hospedador mediante el secuestro de moléculas mediadoras. Uno de los aspectos más relevantes de estas proteínas es que son estructuralmente distintas de las LBPs de sus hospedadores, posicionándolas como excelentes candidatas para el diseño de fármacos y vacunas, así como también para su uso en diagnóstico.

Los objetivos generales de este proyecto se centran en la exploración estructural y biofísica de estas proteínas específicas de nematodos parásitos potencialmente involucradas en la supervivencia de dichos organismos. Conocer más acerca de las estructuras de estas proteínas, así como de sus interacciones con ligandos y membranas, es de fundamental importancia para intentar comprender las interacciones parásito-hospedador que ellas pudieran mediar.

Mediante la utilización de las técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN) y cristalografía de rayos X hemos determinado la estructura tridimensional de dos LBPs provenientes de parásitos de importancia global y local: Na-FAR-1 de

Necator americanus y *As-p18* de *Ascaris suum*. En ambos casos se observaron estructuras novedosas y/o distintas de las LBPs descritas en sus respectivos hospedadores, reforzando la idea de su utilización como blancos terapéuticos. De la misma manera se está procediendo en la obtención de la estructura tridimensional de la poliproteína ABA-1A de *A. suum* en presencia y ausencia de distintos ligandos. Por otra parte, hemos analizado mediante diversas técnicas bioquímicas la preferencia de estas proteínas por distintos ligandos provenientes de entornos biológicos como *E. coli*. Se han encontrado distintos tipos de ligandos lipídicos para los distintos casos estudiados. Na-FAR-1 es capaz de unir ácidos grasos y fosfolípidos mientras que *As-p18* une exclusivamente ácidos grasos.

Recientemente y con el objetivo de evaluar su utilidad en pruebas diagnósticas, hemos iniciado la búsqueda de LBPs presentes en el nematode parásito de importancia zoonótica *Diectophyma renale*. De acuerdo a resultados obtenidos mediante técnicas bioquímicas y biofísicas hemos encontrado una proteína que une ácidos grasos en el líquido pseudocelómico de este organismo.

MR5- IDENTIFICACIÓN DE POTENCIALES BLANCOS TERAPÉUTICOS Y TAMIZAJE DE DROGAS

Coordinadores: Vanina Álvarez - Claudio Pereira

MR5.1- STRATEGY FOR THE CONFIDENT IDENTIFICATION OF TIGHT-BINDING PROTEASE INHIBITORS BY THE COMBINATION OF ENZYMATIC AND INTERACTION-BASED ASSAYS.

Emir Salas.

Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba; IIB-INTECH, UNSAM, Bs. As. E-mail: emirsalas@gmail.com

Plasmodium falciparum and *Trypanosoma cruzi* are the causative agents of Malaria and Chagas Disease, two prevalent protozoal infections affecting millions of people worldwide. Given the lack of effective vaccines and the reduced effectiveness of current treatments, there is a desperate need for new antiparasitic drugs, showing innovative mechanisms of action and directed toward novel targets. In this regard, proteases have gained considerable attention, as some of them play central roles in essential processes for these organisms, rising as attractive targets for therapeutic intervention. In consequence, the identification of potent and selective inhibitors for such targets is considered a promising approach to develop new leads with high therapeutic potential.

Two main methodologies have been used alternatively for the identification of protease inhibitors: enzyme-specific activity assays (for the evaluation of inhibitory activity) and interaction-based assays (which sense directly the binding to the target enzyme). Separately, both methodologies show intrinsic limitations that difficult their applicability during the inhibitor screening process, in particular when: (i) highly potent inhibitors are desired and/or (ii) complex heterogeneous samples, such as natural extracts, are evaluated.

Here, we present a general strategy for the confident identification of tight-binding protease inhibitors. The strategy combines modified enzymatic activity assays with binding assays in a two-round process to achieve maximal identification confidence, high-throughput and economy. This strategy was successfully applied to the identification of tight-binding protease inhibitors for Cruzipain (*T. cruzi*), Plasmepsin II and Falcipain 2 (*P. falciparum*) from both, small collections of synthetic compounds and complex natural extracts. Given the versatility of the methodologies used, this strategy could be easily adapted to other enzymes.

MR5.2- IMPORTANCE OF DRUG REPOSITIONING FOR THE DEVELOPMENT OF INNOVATIVE THERAPIES FOR TROPICAL DISEASES

Alan Talevi⁽¹⁾, Carolina Bellera⁽¹⁾, M Laura Sbaraglini⁽¹⁾, Lucas Alberca⁽¹⁾, Darío Balcázar⁽²⁾, Laura Fraccaroli⁽²⁾, M Cristina Vanrell⁽³⁾, A Florencia Casassa⁽³⁾, Carlos Labriola⁽⁴⁾, Catalina D Alba Soto⁽⁵⁾, Patricia S Romano⁽³⁾, Carolina Carrillo⁽²⁾.

⁽¹⁾Química Medicinal/Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Bioactivos, Departamento de Ciencias Biológicas, UNLP, La Plata. ⁽²⁾Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. Cesar Milstein, Buenos Aires. ⁽³⁾Instituto de Histología y Embriología - CONICET – Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza. ⁽⁴⁾Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Buenos Aires; ⁽⁵⁾IMPAM, Facultad de Medicina, UBA- CONICET, Buenos Aires. E-mail: atalevi@biol.unlp.edu.ar

The term “drug repositioning” refers to the identification of second or further medical uses for known drugs, including approved, experimental, abandoned and discontinued ones. It is an efficient approach from the translational viewpoint: repositioned drugs required relatively low resource investment compared to de novo drugs, since usually a number of preclinical and clinical studies can be bypassed when investigating second medical uses, as they been done previously when studying the original therapeutic indication. Furthermore, the probability of surviving clinical trials is substantially higher for repurposed drug candidates than for novel ones. International organizations, including the US NIH, have recently launched

funding programs to foster public-private consortiums oriented to drug repositioning. The approach could have a prominent role in the development of innovative treatments for rare and neglected diseases, including tropical parasitic diseases. In fact, most of the drugs for such conditions currently going through clinical trials are repositioned drugs. Here we will briefly describe different rational approaches to drug repositioning, with an emphasis on computer-guided approaches, and we will present some results from our research network using this strategy in the search of novel therapeutics for trypanosomatid infections, including cruzipain inhibitors and polyamine analogs.

MR5.3- METABOLISMO DE TRIPANOTIÓN Y POLIAMINAS COMO POTENCIAL BLANCO TERAPÉUTICO CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Rodrigo A López-Muñoz⁽¹⁾, Juan D. Maya⁽²⁾.

⁽¹⁾Instituto de Farmacología Y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. ⁽²⁾Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. E-mail: rodrigo.lopez@uach.cl

La enfermedad de Chagas, producida por el parásito *Trypanosoma cruzi*, es una patología endémica en América Latina. El tratamiento de esta patología se basa en el uso de los fármacos nifurtimox y benznidazol, los cuales han demostrado ser de eficacia limitada, además de contar con efectos adversos frecuentes. En la búsqueda de nuevas estrategias contra la enfermedad, el metabolismo del tripanotión ha sido uno de los blancos terapéuticos más explorados. Tripanotión (T(SH)₂), formado por dos moléculas de glutatión y una molécula de espermidina (una poliamina), es fundamental para el balance redox del parásito y su resistencia a nifurtimox y benznidazol. Durante los últimos 10 años, hemos estudiado dos procesos claves de la síntesis de tripanotión como herramientas de potenciación de fármacos antichagásicos: la síntesis de glutatión y el transporte de poliaminas. La síntesis de glutatión es eficientemente inhibida por butionina sulfoximina (BSO), inhibidor de la enzima cisteína-glutamato ligasa. BSO disminuye significativamente los niveles de T(SH)₂ en las tres formas del parásito (epimastigote, tripomastigote y amastigote), e incrementa el efecto de nifurtimox y benznidazol en células infectadas. En ratones infectados, BSO también demostró incrementar el efecto de benznidazol, pero disminuye de manera no selectiva los niveles de glutatión en los animales, especialmente a nivel hepático. En consecuencia, es necesario buscar inhibidores más específicos de la síntesis de glutatión. Por otra parte hemos estudiado el transporte de poliaminas como estrategia para aumentar el efecto de antichagásicos. En *T. cruzi*, la síntesis de poliaminas es limitada, dada la inexistencia de la enzima ornitina decarboxilasa, presente en todas las demás células eucariotas conocidas. Por tanto la disponibilidad de putrescina es dependiente de su transporte desde el medio extracelular. Hemos descrito que pentamidina, un antiguo antiprotozoario, inhibe el transporte de putrescina y tiene leve actividad antichagásica. No obstante, estudios en células y ratones infectados han mostrado que pentamidina antagoniza el efecto de fármacos como benznidazol, a través de mecanismos aún no conocidos. Tripanotión sigue siendo una molécula interesante desde el punto de vista quimioterapéutico, por tanto es indispensable continuar estudiando la síntesis de tripanotión y los mecanismos que regulan el transporte de poliaminas en el parásito. Financiado Por Dirección de Investigación y Desarrollo (DID), Universidad Austral de Chile (RALM) y Proyecto FONDECYT 1130189 (JDM)

MR5.4- ESTUDIOS DE TRADUCCIÓN POR "RIBOSOME PROFILING" EN *TRYPANOSOMA CRUZI*

Pablo Smircich⁽¹⁾, Guillermo Eastman⁽²⁾, Saloe Bispo⁽³⁾, Maria A Duhagon⁽¹⁾, Beatriz Garat⁽⁴⁾, Samuel Goldenberg⁽³⁾, David Munroe⁽⁵⁾, Bruno Dallagiovanna⁽³⁾, Fabiola Holetz⁽²⁾, José R. Sotelo-Silveira⁽²⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

⁽²⁾Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay.

⁽³⁾Laboratorio de estudios de regulación de la expresión génica. Instituto Carlos Chagas, FIOCRUZ. Curitiba, Brazil.

⁽⁴⁾Laboratorio de Interacciones Moleculares. Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

⁽⁵⁾Cancer Research Technology Program, Leidos Biomedical Research, Inc., Frederick National Laboratory for Cancer Research. Frederick, USA. E-mail: sotelojos@gmail.com

La regulación post-transcripcional constituye el principal nivel regulatorio en tripanosomátidos. Por lo tanto, el estudio de los transcritos que están siendo traducidos (traductoma) resulta clave para entender el control de su expresión génica. En este trabajo, determinamos el traductoma de *Trypanosoma cruzi* en los estadios epimastigota y tripomastigota metacíclico, usando la metodología ribosome profiling. El estadio tripomastigote metacíclico es el responsable de la infección del mamífero y resulta de un proceso de diferenciación a partir de los epimastigotas replicativos. Nuestros resultados correlacionan muy bien con datos proteómicos previos, siendo estas correlaciones mejores que las correspondientes al transcriptoma. Esto revela que la aproximación traductómica es más adecuada que la transcriptómica para estimar la expresión a nivel de proteínas. Los datos muestran que una gran proporción del traductoma de los epimastigotas está ausente en el estadio infeccioso. Por otra parte, la eficiencia traduccional presenta un amplio rango dinámico y varios genes cambian su eficiencia en ambos estadios, apoyando la importancia de este nivel regulatorio en la expresión génica diferencial. En el estadio tripomastigote metacíclico, la eficiencia traduccional de importantes factores de

virulencia como las proteínas de la superfamilia de las trans-sialidasas aumenta, mientras que la eficiencia de otras familias génicas como las proteínas ribosomales disminuye. Por otra parte, el análisis del traductoma resulta en la detección de pausas traduccionales. El análisis del uso de codones diferencial en estos sitios sugiere que el uso de codones modula la cinética del movimiento de los ribosomas sobre el ARNm en estos parásitos. Globalmente, el estudio resalta la importancia de la regulación traduccional durante la diferenciación del parásito.

MR6- TRANSMISION MATERNO INFANTIL DEL *TRYPANOSOMA CRUZI*

Coordinador: Sergio Sosa Estani

MR6.1- EVALUACIÓN DE HERRAMIENTAS CONVENCIONALES Y MOLECULARES EN EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CONGÉNITO

Margarita MC Bisio, Nicolás González, Romina Volcovich, Samanta Moroni, Camila Kessler, Griselda Ballering, Guillermo Moscatelli, Fernan Agüero, Carlos A Buscaglia, Facundo García-Bournissen, Jaime Altcheh.

Servicio de Parasitología y Enfermedad de Chagas, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina. E mail: marguib@gmail.com

Introducción: La enfermedad de Chagas (ECh), causada por *Trypanosoma cruzi*, es uno de los mayores problemas de salud pública en América. La ECh congénita es el producto de la transmisión de parásitos de la madre a su hijo. Constituye la primera forma de aparición de nuevos casos en nuestro país. La efectividad del tratamiento en niños menores de un año alcanza niveles entre el 90% y 100%. Por esto el diagnóstico temprano es clave, siendo fundamental en la prevención y control de la ECh. En el recién nacido se realiza mediante ensayos parasitológicos convencionales (EP). Los EP se caracterizan por su escasa sensibilidad, laboriosidad, imposibilidad de realizar programas de control de calidad (QC) y necesidad de microscopistas experimentados. La detección del parásito por PCR en neonatos demostró ser más sensible que el diagnóstico por EP. Sin embargo no fue evaluada en los sistemas de la salud, no hay programas de QC y su uso está limitado a instituciones con altos recursos tecnológicos. La serología permite confirmar la ausencia de la infección una vez eliminados los Ac IgG maternos pero implica el seguimiento del niño por un tiempo prolongado pocas veces logrado.

Objetivo: estudiar la cinética de la parasitemia y títulos de Ac anti-*T. cruzi* en hijos de mujeres con ECh para evaluar la calidad de los diferentes métodos disponibles en su capacidad para la detección temprana de la ECh congénita. Pacientes y métodos: estudio prospectivo observacional (junio 2012 a julio 2015). Diagnóstico: a) < de 8 meses: EP positivo, b) > de 8 meses: serología reactiva por 2 técnicas. PCR en tiempo real (PCRq): dirigida a secuencias satélite de *T. cruzi*. Tratamiento: benznidazol (5-8 mg/kg/día, 60 días). Se obtuvieron muestras para EP a los 7d, 2 y 5 meses, para serología a los 7d y 2, 5, 7 y 9 meses y para PCRq a los 7d y 9 meses.

Resultados: Se reclutaron 119 pacientes. Hasta el momento 81 (68%) completaron el seguimiento hasta los 9 meses, 13 (16,0%) presentaron la infección y en 68 se descartó la infección. El EP fue positivo en: 10/119 pacientes. La PCRq fue positiva en: 11/102 pacientes. En mayores de 7 meses la serología fue positiva en 3/71 pacientes, en estos 3 pacientes la PCRq fue positiva en la primera y última muestra analizada. En los pacientes no infectados la mediana de negativización de Ac fue de 7,5 meses (IQ25-75 6,1-9,1). Ninguno fue positivo luego de los 7 meses. Todos los pacientes infectados tratados presentaron EP, PCRq y serología negativas al final del seguimiento.

Conclusiones: Los métodos convencionales (EP y serología) nos permitieron diagnosticar la infección asegurando una adecuada atención de los pacientes. La PCRq es un método de alta sensibilidad y podría ser útil en centros de alta complejidad si se utilizan los QC adecuados. El benznidazol es altamente efectivo en el tratamiento de la ECh congénito agudo.

El estudio fue aprobado por el comité de ética del HNRG y fue financiado por el MinCyT (FONARSEC) y MSAL (beca Ramón Carrillo).

MR6.2- DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EN CHILE. ESFUERZOS CONSOLIDADOS Y DESAFÍOS PENDIENTES

Inés Zulantay⁽¹⁾, Werner Apt⁽¹⁾, Miguel Saavedra⁽¹⁾, Mauricio Canals⁽¹⁾, Víctor Peña⁽²⁾

⁽¹⁾Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ⁽²⁾Departamento de Enfermedades Transmisibles, DIPRECE, Ministerio de Salud. Chile. E-mail: izulanta@med.uchile.cl

En Chile, la transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi* por *Triatoma infestans* se encuentra interrumpida, la transmisión por hemoderivados prácticamente controlada y como consecuencia, la meta se ha relevado a la interrupción de la transmisión vertical. Los esfuerzos se han materializado en la principal indicación de la "Norma General Técnica Control y Prevención Nacional de la enfermedad de Chagas (ECh)" (2014), que es establecer tamizaje en el 100% de embarazadas de

zonas endémicas que ingresan a control perinatal y en embarazadas procedentes de zonas no endémicas con factor de riesgo detectado a través de anamnesis dirigida. Recientes estudios realizados en localidades endémicas de la IV Región de Coquimbo por nuestro grupo, evidenciaron un 3.4% de prevalencia de infección por *T. cruzi* en la mujer embarazada y 4.7% de transmisión congénita, cifras que permiten proyectar para la región 25 recién nacidos (RN) infectados por año. Se pesquisarón 134 madres durante 2005-2009, 62 de las cuales (46.2%) fueron tratadas con nifurtimox (NFX) después del período de lactancia (2009-2011). A los 22 meses promedio post-terapia, el 77.4% de ellas tenía carga parasitaria de <1 parásito equivalente/ml y el 56.5%, trazado electrocardiográfico normal. El último control post-terapia, se realizó en enero/2014. En cuanto a los RN, se descartó la infección por *T. cruzi* en 122 casos (83%) mediante seguimiento serológico y/o parasitológico. En 6 casos se confirmó la infección congénita por *T. cruzi*, pero sólo cuatro fueron tratados con NFX. 19 RN no fueron estudiados (12.9%). Se realizaron además: acciones de información-educación a la madre infectada y su núcleo familiar, estudio serológico de la infección por *T. cruzi* en línea materna, estudios de histología placentaria y, en algunos binomios madre/hijo infectado, estudios del linaje de *T. cruzi* circulante. Estudios como éste han permitido que equipos de salud de todo el país, convocados anualmente por MINSAL, investigadores y expertos internacionales, reconozcan la ECh congénita, como un importante desafío para la salud pública nacional. En relación a nuevas propuestas, Fondecyt 1150514 (*M.Canals*) pretende analizar la dinámica de la ECh y construir mapas de riesgo de la enfermedad constatando el cambio desde una transmisión vectorial a una congénita, modelando preliminarmente la dinámica epidemiológica de la parasitosis. Basados en modelos de Canals & Cattán (1992) y Raimundo *et al* (2010), de transmisión vectorial y congénita, respectivamente, se propone que la transmisión congénita es “alimentada” por la transmisión vectorial y que sin ésta la ECh congénita debiera disminuir exponencialmente hasta desaparecer, hecho que dependerá de la tasa de mortalidad de la población humana, edad en que las mujeres comienzan su actividad sexual y proporción de mujeres e hijos infectados tratados precozmente con fármacos anti-tripanosomas. *Financiamiento*: Proyectos Fondecyt 1080445,1120382,1150514.

MR6.3- DIAGNÓSTICO Y PERFIL INMUNOLÓGICO DE NEONATOS CON INFECCIÓN CONGÉNITA POR *TRYPANOSOMA CRUZI*: RELACIÓN CON LA CARGA PARASITARIA

Bibiana J Volta, Jacqueline Búa.

Instituto Nacional de Parasitología “Dr. M. Fátala Chaben”. ANLIS C.G. Malbrán. Buenos Aires E mail: bvolta@gmail.com

La enfermedad de Chagas es causada por el protozoo parásito unicelular *Trypanosoma cruzi*. La transmisión madre-hijo del *Trypanosoma cruzi* es la forma no controlable de la diseminación del parásito, que no puede tratarse con drogas, por sus efectos adversos en el embarazo. El diagnóstico de la infección en bebés es complejo, se realiza por detección del agente etiológico y/o de anticuerpos específicos no transferidos por la madre, en ausencia de transfusión sanguínea y transmisión vectorial. Con el objetivo de analizar diferentes factores que podrían permitir el diagnóstico temprano de la enfermedad de Chagas congénita, se estudiaron los niveles de parasitemia, los títulos de anticuerpos específicos contra un antígeno secretado por el parásito (SAPA), las alteraciones en los perfiles inmunológicos de bebés no infectados y congénitamente infectados y se aislaron y caracterizaron los parásitos infectantes. Como controles se incluyeron bebés no infectados, nacidos de mujeres seropositivas y bebés sanos, nacidos de mujeres no infectadas. Los estudios de carga parasitaria se realizaron por PCR cuantitativo, los de caracterización del parásito infectante, por hemocultivo y amplificación de ADN de marcadores de linajes, los estudios serológicos e inmunológicos por ELISA y citometría de flujo. Los títulos de anticuerpos anti-SAPA se evaluaron en los binomios madre-hijo.

Se encontró que la presencia de una alta parasitemia en bebés determina su posibilidad de diagnóstico oportuno y se correlaciona con los anticuerpos anti-SAPA. Se estimó un índice diferencial-SAPA durante el primer mes de vida de los bebés (DO ELISA-SAPA del bebé – DO ELISA-SAPA madre) que permitió detectar la infección congénita en un 90,5% de los casos. La sensibilidad de este índice aumentó al 100% cuando se calculó con muestras del binomio tomadas a los 6 meses de vida del bebé ($p < 0.05$). Las muestras de niños congénitamente infectados que no se detectaron a través del índice diferencial tuvieron en común que su carga parasitaria estuvo por debajo de la sensibilidad de nuestra técnica de PCR cuantitativa (cut off= 0,14 eP/ ml). El linaje Tc V se identificó en 18 muestras de sangre de bebés infectados, mientras que el linaje Tc I solo se detectó en un bebé que mostró una parasitemia muy baja. Las citocinas IFN- γ e IL-17A y las quimiocinas MCP-1 y MIG se expresaron diferencialmente en bebés infectados, encontrándose una fuerte correlación entre MIG y la carga parasitaria. Nuestros resultados permitirán proyectar posibles y novedosos desarrollos en el diagnóstico precoz de la infección en el recién nacido, que posibilitaría su inmediato tratamiento y curación y contribuiría a la disminución de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica y en países en el exterior, receptores de inmigrantes de área endémica.

MR6.4- TRATAMIENTO TRIPANOCIDA EN MUJERES Y PREVENCIÓN DE CHAGAS CONGÉNITO

Diana L Fabbro⁽¹⁾, Emmaria Danesi⁽²⁾, Veronica Olivera⁽¹⁾, Maria Olenka Codebó⁽³⁾, Susana Denner⁽¹⁾, Cecilia Heredia⁽²⁾, Mirtha Streiger⁽¹⁾, Sergio Sosa-Estani^(2,3).

⁽¹⁾Centro Nacional sobre Endemias Nacionales,, Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe. ⁽²⁾Centro de Diagnóstico e Investigación de Endemo-epidemias (CeNDIE), ANLIS Malbrán, Buenos Aires. ⁽³⁾Instituto Nacional de Parasitología (INP), "Dr Mario Fatała Chaben", ANLIS Malbrán, Buenos Aires. E-mail: dianafabbro@yahoo.com.ar

La vía transplacentaria es la forma más frecuente de infección con *Trypanosoma cruzi* en regiones donde están controladas las vías vectorial y transfusional. Además, por migraciones ocurre en cualquier lugar del mundo. La administración del tratamiento tripanocida tiene indicaciones con evidencias limitadas en infectados crónicos mayores de 18 años de edad y está contraindicada durante el embarazo. Este trabajo evaluó la eficacia del tratamiento antiparasitario en la prevención de Chagas congénito y comparó los cambios serológicos y clínicos entre madres tratadas y sin tratar. Se realizó un estudio multicéntrico, observacional de cohortes conformadas por mujeres-madres infectadas con *Trypanosoma cruzi*, con seguimiento epidemiológico, serológico y clínico de al menos 8 años. Una cohorte había recibido tratamiento tripanocida antes de ser madre y la otra permaneció sin tratar (grupo control). Se estudiaron sus hijos para detectar infección congénita. Se analizaron 358 registros clínicos de binomios conformados por madre infectada-hijo biológico. De ellos, 134 provenían de mujeres que habían recibido tratamiento tripanocida previo a ser madres y 224 no. Se diagnosticó infección por *Trypanosoma cruzi* en 45 (20%) hijos de madres no tratadas. De ellos, 34 niños (15,2%) tenían como único antecedente la serología materna: 5 se diagnosticaron mediante xenodiagnóstico o strout antes del año, y el resto mediante serología después de los 10 meses de vida, con un promedio de edad al momento del diagnóstico de 5,8 años. Los 11 niños restantes infectados tenían además antecedentes de haber vivido en zonas de riesgo vectorial. De los 134 hijos nacidos de mujeres que habían recibido tratamiento previo al embarazo ninguno tuvo infección por *Trypanosoma cruzi*. El diagnóstico fue realizado a la edad promedio de 4,8 años. La tasa de transmisión transplacentaria entre ambos grupos difirió significativamente. Las madres con seguimiento clínico y serológico (n=117), se agruparon en: A) 25 tratadas antes de los 15 años de edad (9,97±2,74); B) 46 tratadas a los 15 o más años de edad (27,9±6,7); Grupo C: 46 no tratadas (edad 29,2±6,2 años al ingreso al estudio). El seguimiento para los Grupos A; B y C fue 16,3±5,8; 17,5±9,2 y 18,6±8,6 años, respectivamente. Negativizaron serología: Grupo A 64% (16/25); Grupo B 32,6% (15/46); Grupo C, no se observó seronegativización. Los cambios clínicos-electrocardiográficos compatibles con cardiopatía chagásica observados fueron: Grupo A 0,0% (0/25); B 2,2% (1/46) y C 15,2% (7/46). Estos resultados indicarían el beneficio de ofrecer el tratamiento tripanocida a personas jóvenes con infección crónica. Se comprobó su efectividad para interrumpir la cadena de transmisión madre-hijo ya sea por disminución o eliminación de la carga parasitaria; demostró un efecto protector en la evolución clínica y produjo desparasitación en al menos 43,7 % de las mujeres tratadas.

MR7- MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN ENFERMEDADES PARASITARIAS

Coordinadora: Fernanda Frank

MR7.1- LIGANDOS PPAR: PAPEL EN LA POLARIZACIÓN DE MACRÓFAGOS Y LA RESPUESTA ANGIOGÉNICA CARDÍACA EN UN MODELO MURINO DE INFECCIÓN CON *TRYPANOSOMA CRUZI*

Federico Penas⁽¹⁾, Gerardo Mirkin⁽¹⁾, Ágata Cevey⁽¹⁾, M Sales⁽²⁾, Nora Goren⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET). ⁽²⁾Centro De Estudios Farmacológicos Y Botánicos (CEFyBO, UBA-CONICET).

La patogenia de la enfermedad de Chagas se caracteriza por su etiología mixta en la que participan tanto el parásito como procesos inflamatorios que conducen al daño cardíaco. Los macrófagos (Mφ) juegan un papel crítico en el transcurso de la enfermedad. Su infección induce grandes cantidades de mediadores proinflamatorios que intervienen en el control del parasitismo tisular, pero también pueden causar daños irreversibles en los tejidos afectados. Los receptores activados por factores de proliferación peroxisomal (PPAR) y sus ligandos han sido implicados en la regulación de la respuesta inflamatoria y en la polarización de Mφ hacia un perfil alternativo. Sin embargo, su papel en la enfermedad de Chagas ha sido poco estudiado. Por esta razón, nos propusimos evaluar el efecto de ligandos de PPAR sobre el perfil de activación de Mφ y sobre la neovascularización cardíaca con el fin de determinar su posible implicancia en la resolución de las alteraciones cardíacas en ratones infectados con *Trypanosoma cruzi*. Primero, establecimos que más del 75% de las células adherentes de exudado peritoneal de ratones infectados expresan el marcador de F4/80 (FACS) y mediadores proinflamatorios (NOS2, TNF-α, IL-6, IL-1β) (RT-PCR y WB). Los ligandos de PPAR estudiados (15dPGJ2, HP24 y Wy14643) inhiben dicha respuesta: disminuyen la expresión de NOS2 (FACS, RT-PCR, WB) y la liberación de NO (Griess). Además, inhiben la expresión de IL-6, TNF-α e IL-1β (q-RT-PCR) y aumentan la de Arginasa I (FACS, WB), del receptor de manosa, de Ym1 y TGF-β (qRT-PCR) en los Mφ infectados. Por último, evaluamos el efecto de los ligandos sobre la expresión de marcadores proangiogénicos en Mφ y corazones de ratones infectados. Observamos que el tratamiento diario con HP24 aumenta la expresión de VEGF y de Arginasa I en Mφ de ratones infectados. Además, analizamos la expresión de estos marcadores en corazón de ratones infectados y tratados con el ligando de PPARγ. Observamos que el tratamiento aumenta la expresión de VEGF, CD31 y Arginasa I y disminuye la de NOS2. Estos resultados demuestran que agonistas PPAR cambian el perfil de Mφ inflamatorios a activados alternativamente, e inducen factores proangiogénicos en el tejido cardíaco.

MR7.2- IMPACTO DEL TRATAMIENTO ETIOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA RESPUESTA INMUNE EN NIÑOS EN ETAPAS TEMPRANAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA

María Cecilia Albareda⁽¹⁾, Ana M De Rissio⁽¹⁾, Marisa Fernandez⁽¹⁾, María A Serjan⁽²⁾, Mari G Alvarez⁽³⁾, Gretchen Colley⁽⁴⁾, Laura E Fichera⁽¹⁾, Rodolfo Viotti⁽³⁾, Rick L Tarleton⁽⁴⁾, Susana A Laucella⁽¹⁾.

⁽¹⁾INP Dr M Fatala Chaben, CABA. ⁽²⁾Hospital Fernandez, CABA. ⁽³⁾HIGA Eva Perón, Bs.As. ⁽⁴⁾Center for Tropical and Emerging Global Diseases, Athens, Georgia, USA. E mail: mcalbareda@gmail.com

La enfermedad de Chagas, producida por el protozoario flagelado *Trypanosoma cruzi*, es la causa infecciosa más frecuente de miocardiopatía dilatada a nivel mundial. Debido a los procesos intensos de migraciones internacionales, la enfermedad de Chagas genera también un gran impacto en áreas no endémicas para la infección. Resultados previos del laboratorio han demostrado que niños en la fase indeterminada de la enfermedad de Chagas crónica presentan linfocitos T polifuncionales específicos para *Trypanosoma cruzi* a pesar de que el compartimiento total de linfocitos T muestra signos de estimulación antigénica persistente. En este trabajo evaluamos el efecto del tratamiento con benznidazol sobre la respuesta inmune humoral y celular T específica para *Trypanosoma cruzi*, así como también, el fenotipo del compartimiento total de los linfocitos T en niños infectados con *Trypanosoma cruzi* seguidos hasta los 50 meses postratamiento. El tratamiento con benznidazol indujo una disminución en la frecuencia total de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados (HLA-DR⁺), de memoria altamente diferenciados (CD45RA⁻CD27⁻CD28⁻) y efectores (CD45RA⁺CCR7⁻CD62L⁻) a los 6 meses postratamiento. Por otro lado observamos una disminución en la producción de linfocitos T productores de IFN- γ e IL-2 específicos para antígenos de *T. cruzi* a partir de los 24 meses postratamiento. Entre las pruebas serológicas convencionales, ELISA fue la más sensible, detectando una disminución significativa a los 6 meses después del tratamiento mientras que recién a partir de los 24 meses observamos una disminución de los valores por inmunofluorescencia. El ensayo no convencional de multiplex también detectó un impacto significativo en la respuesta humoral específica para *Trypanosoma cruzi* a los 6 meses postratamiento. El temprano descenso en los niveles de anticuerpos, observado en los niños contrasta con los hallazgos en pacientes adultos tratados con benznidazol, en los que la caída de anticuerpos empieza a evidenciarse a partir de los dos años postratamiento. Sin embargo, los pacientes adultos muestran un descenso significativo en linfocitos T productores de IFN- γ al año postratamiento pero sin cambios significativos en el fenotipo de la población T total. Nuestros resultados sustentan que el impacto del tratamiento con benznidazol sobre el sistema inmune es diferente entre niños y adultos con infección por *Trypanosoma cruzi* probablemente debido a un mayor deterioro de la respuesta inmunológica en pacientes con largo tiempo de evolución.

MR7.3- GALECTINA-1 PROTEGE A LA CÉLULA CARDÍACA DE LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Alejandro F. Benatar⁽¹⁾, Gabriela A. García⁽²⁾, Jacqueline Bua², Juan P. Cerliani³, Miriam Postan², Laura M. Tasso¹, Juan Scaglione⁴, Juan Stupirski³, Marta Toscano³, Gabriel Rabinovich³, Karina A. Gómez¹

¹Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas (LabMEch), INGEBI-CONICET, Bs. As. ²Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben", Bs. As. ³Laboratorio de Inmunopatología, IBYME-CONICET, Bs. As. ⁴Hospital Pedro de Elizalde, Servicio de Cardiología, Bs. As. E-mail: drkagomez@gmail.com

La cardiopatía chagásica crónica, causada por el parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, es el resultado de un proceso patológico que puede comenzar durante la fase aguda de la infección y, en el cual intervienen múltiples factores. Entre ellos, el reconocimiento específico de las estructuras de glicanos presentes en la superficie del parásito o de las células del mamífero hospedero por proteínas de unión a glicanos, como las galectinas, podría tener un papel crítico no sólo en la evolución de la miocarditis sino también en el control de la infección por *T. cruzi*.

Galectina-1 (Gal-1), un miembro "proto-tipo" de la familia de galectinas, participa en la regulación de diversos procesos inmunológicos como la inflamación y en la interacción patógeno-hospedador. En el caso particular de la infección por *T. cruzi*, la expresión de Gal-1 se encuentra aumentada en macrófagos y en células B infectadas experimentalmente, así como también en biopsias de corazón y suero de pacientes con enfermedad de Chagas crónica. En este trabajo, observamos que la infección de células cardíacas HL-1 con tripomastigotes de las cepas Tulahuén (DTU VI) y Brazil (UDT I) no aumentó la expresión de Gal-1 pero si su liberación de Gal-1, hecho que se relaciona con la lisis celular inducida por el parásito. Gal-1 disminuyó significativamente el porcentaje de células cardíacas HL-1 infectadas con tripomastigotes de ambas cepas, así como también protegió a los cardiomiocitos de los primeros eventos (exposición de fosfatidilserina) que ocurren en el evento de apoptosis inducidos por el parásito. La ausencia de unión de Gal-1 a los tripomastigotes sugiere que ambos procesos involucran la interacción directa de Gal-1 con estructuras de glicanos presentes en la superficie de las células HL-1, a través de su dominio de unión a carbohidratos (CDR). Por otra parte, la infección por *T. cruzi* alteró el perfil de glicosilación de los cardiomiocitos, induciendo una disminución de la unión Gal-1 a los glicanos de la célula. En concordancia con los resultados "in vitro", ratones C57BL/6 deficientes Gal-1 (*Lgals^{-/-}*) presentaron mayor parasitemia, disminución de los signos de inflamación en el corazón y los tejidos del músculo esquelético, y menor tasa de supervivencia en comparación con los animales salvajes (WT) en respuesta a la infección intraperitoneal con 2.500 tripomastigotes metacíclicos de la cepa *T. cruzi* Tulahuén. Contrariamente, no se hallaron diferencias en estos parámetros entre los ratones transgénicos y salvajes infectados con la cepa Brazil, dado que la mayoría de los animales sobrevivió a la infección, y desarrolló baja parasitemia,

en concordancia con la menor infectividad de esta cepa. Los resultados en su conjunto, sugieren que Gal-1 protegería a la célula cardiaca de la infección por *T. cruzi*, mientras que el parásito induciría un cambio en los glicanos de superficie de la célula, hacia un fenotipo resistente a la unión de esta lectina. Estos datos proporcionan nuevos conocimientos sobre la relevancia de la interacción entre las galectinas y sus ligandos en la relación huésped-parásito.

MR7.4- TOXOLASMA GONDII AND MODULATION OF THE SUSCEPTIBILITY TO DEVELOP ALLERGIC LUNG INFLAMMATIONS

Ignacio Fenoy, *Alejandra Goldman*.

CECyMA, Escuela de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional San Martín, Bs. As. E-mail: agoldman@unsam.edu.ar

Allergic asthma is an airway chronic inflammatory disease characterized by increased allergen specific IgE production, eosinophilic airway inflammation, increased mucus secretion and airway hyperreactivity dependent on increased production of Th2 cytokines. The reasons for the increased incidence of allergy registered in last decades are not well understood. The lack of some infections arising from modern life style would be mainly responsible for the growing prevalence. Epidemiological studies show that allergies are less frequent in people exposed to orofecal and foodborne microbes such as the protozoan *T. gondii*. Infection with this parasite induces a strong Th1 immune response. To prevent the imbalance of the strong Th1 response resulting in immunopathology, anti-inflammatory cytokines including IL-10 and TGF- β are produced. Using a mouse model of asthma, we studied the outcome of *T. gondii* infection on the development of allergic lung inflammation. Acute and chronic infection with *T. gondii* before sensitization blocked the development of inflammation in BALB/c mice as shown by a decrease in bronchoalveolar lavage (BAL) eosinophilia, cell infiltrate around airways and vessels and goblet cell hyperplasia. Low levels of serum allergen-specific IgE and IgG1 and high levels of IgG2a were detected. A decreased IL-4 and IL-5 production by thoracic lymph node cells (TLNC) was observed. These results suggested that the protective effect might be related to the high levels of Th1 cytokines associated with the response against *T. gondii*. Nevertheless, other mechanisms could also be involved. The possibility that regulatory T cells normally prevent and control the development of atopic disorders is supported from research in murine models and humans. Our results show that TLNC from mice sensitized after parasite infection have suppressor activity. Suppression was detected both *in vitro*, on allergen specific T cell proliferation and *in vivo*, on allergic lung inflammation after adoptive transference from infected/sensitized mice to previously sensitized animals. This ability was found to be contact- independent and correlated with an expansion of CD4⁺FoxP3⁺ cells. Experiments with IL-10-deficient mice suggested that IL-10 is not mediating the protection from allergic inflammation. High levels of TGF- β were detected in mice sensitized during chronic infection. In addition to lung airway inflammation, *T. gondii* infection can suppress allergic responses at systemic level. A decreased active cutaneous anaphylaxis was observed. These results open the possibility that this protozoan infection could modulate other allergic disorders such as atopic dermatitis or oral allergies. Our work shows for the first time the ability of a protozoan to prevent the development of allergic inflammations. Understanding the mechanisms by which different microorganisms regulate inflammation may potentially lead to the development of strategies aimed to control atopic diseases.

MR8- EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE PROTOZOARIOS

Coordinadora: M. Victoria Cardinal

MR8.1- EL GANADO VACUNO COMO RESERVORIO DE VARIEDADES ZONÓTICAS DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* Y *ENTEROCYTOZON BIENEUSI*

Valeria F. Del Coco^(1,2), María A. Córdoba^(1,3).

⁽¹⁾Centro Universitario de Estudios Microbiológicos y Parasitológicos (CUDEMyP), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

⁽²⁾CONICET. ⁽³⁾CIC Provincia de Buenos Aires. E-mail: vdelcoco@med.unlp.edu.ar

El ganado vacuno puede convertirse en una de las principales fuentes de infección de agentes zoonóticos si el desarrollo de la industria ganadera no está acompañado de adecuadas medidas de prevención. Un gran número de agentes zoonóticos están asociados a diarrea cuya gravedad dependerá del inóculo infectivo y del estado inmune del hospedador. *Cryptosporidium* y *Enterocytozoon* son patógenos zoonóticos emergentes los cuales se transmiten a través de las heces de un gran rango de hospedadores. Durante el período 2010-2012, en colaboración con el Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, nuestro grupo de trabajo efectuó un relevamiento de *Cryptosporidium parvum* y *Enterocytozoon bieni* (principales especies zoonóticas de los respectivos géneros) en materia fecal de terneros menores de 2 meses de vida. Estos se encontraban ubicados en tambos lecheros distribuidos en 12 partidos de la cuenca Mar y Sierras de la Provincia de Buenos Aires.

Para la detección de subtipos de *C. parvum*, se utilizó como marcador genético polimórfico al gen de la glicoproteína de superficie GP60; en el caso de *E. bieni*, la detección de genotipos se basó en el polimorfismo de la secuencia de la región espaciadora interna de su ARNr.

En relación a *C. parvum*, se detectó una amplia variedad de subtipos zoonóticos dentro de esta especie, tales como IlaA16G1R1, IlaA18G1R1, IlaA19G1R1, IlaA20G1R1, IlaA21G1R1, IlaA22G1R1, IlaA23G1R1, siendo el subtipo prevalente el IlaA20G1R1. Se detectó coinfección por los subtipos IlaA21G1R1 y IlaA22G1R1 en dos muestras.

En cuanto a *E. bienesi*, se identificaron los subtipos D, I, J, y BEB4, descritos previamente en terneros y humanos; por primera vez en estos animales, fue encontrado el genotipo EbpC, el cual había sido descrito con anterioridad en humanos y un nuevo genotipo, BEB10, fue identificado en un ternero. El genotipo más prevalente fue el J, seguido por I. No se detectó infección mixta. Cinco de los seis genotipos identificados son zoonóticos.

En un total de 5 animales se detectó presencia tanto de *C. parvum* como *E. bienesi*, encontrándose las siguientes asociaciones: subtipo IlaA18G1R1 con genotipo I, IlaA20G1R1 con genotipo D, IlaA20G1R1 con genotipo J, IlaA21G1R1 con genotipo BEB4 y IlaA22G1R1 con genotipo J.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la diversidad genética de *C. parvum* y *E. bienesi* en terneros de la región. La presencia de estos microorganismos en terneros sugiere que estos animales podrían representar un riesgo para la salud pública a través de la contaminación de las aguas de bebida con los elementos infectivos de tales microorganismos. Para una mayor comprensión de la transmisión zoonótica de estos agentes, es fundamental llevar a cabo estudios moleculares de aislamientos provenientes de humanos que convivan o estén en contacto con estos animales.

MR8.2- GENES CANDIDATOS PARA LA TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE *LEISHMANIA* SPP.

Jorge D Marco^(1,2), Paola A Barroso^(1,2), Fabricio M Locatelli⁽³⁾, S. Pamela Cajal⁽²⁾, Carlos L Hoyos⁽²⁾, M Cecilia Nevot⁽⁴⁾, Juan J Lauthier⁽¹⁾, Nicolás Tomasi⁽¹⁾, Marisa Juárez⁽²⁾, J Octavio Estévez⁽⁴⁾, Masataka Korenaga⁽³⁾, Julio R Nasser⁽²⁾, Yoshihisa Hashiguchi^(3,5), Paula Ruybal⁽⁶⁾.

⁽¹⁾Instituto de Patología Experimental, Facultad de Cs de la Salud, UNSa/CONICET, Salta. ⁽²⁾Instituto de Investigaciones en Enf Tropicales, Sede Regional Orán, UNSa, Salta. ⁽³⁾Department of Parasitology, Kochi Medical School, Kochi University, Nankoku, Japón. ⁽⁴⁾Veterinaria del Oeste, Posadas, Misiones. ⁽⁵⁾Centro de Biomedicina, Universidad Central del Ecuador y Proyecto Prometeo, SNESCYT, Quito, Ecuador. ⁽⁶⁾Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, UBA/CONICET, Buenos Aires. E mail: pruybal@gmail.com

La leishmaniasis es un conjunto de enfermedades causadas por parásitos protozoarios del orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae y género *Leishmania* transmitidos a través de las picaduras de flebótomos infectados. Pueden presentarse como infecciones asintomáticas, o manifestarse según 3 síndromes clínicos principales: Leishmaniasis Cutánea (LC), Muco-Cutánea (LMC) y Visceral (LV).

En Argentina el área endémica corresponde a 10 provincias del norte del país y hasta el momento se ha descrito la presencia de 5 especies: *L. (Viannia) braziliensis* (LC y LMC), *L. (Leishmania) amazonensis* (LC), *L. (V.) guyanensis* (LC), *L. (V.) panamensis* (LC) y *L. (L.) infantum* (LV). Sin embargo, es frecuente que frente a un caso o foco dado se realice la determinación de género pero no la especie del parásito. Además, la inferencia de especie basándose en su distribución geográfica tradicional debería ser considerada con cautela debido a que el contexto actual de movimientos migratorios, urbanización y cambio climático ha llevado a la expansión y movimiento de ciclos de transmisión pudiendo causar la circulación de nuevas especies en una región dada.

La OMS establece que es crucial que la descripción clínico-epidemiológica sea acompañada con la identificación basada en técnicas moleculares de el o los agentes etiológicos causales de leishmaniasis involucrados en un foco dado sugiriendo como método de referencia el Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLEE), técnica trabajosa, lenta, y que requiere cultivos masivos de parásitos. Esto ha provocado el interés en estudiar posibles marcadores moleculares que logren reemplazar el MLEE.

En este contexto llevamos a cabo la determinación de especie de aislados autóctonos de *Leishmania* spp. (análisis de secuencia del citocromo b) y la determinación de variantes intraespecie a través un enfoque multilocus (seis genes housekeeping). Fueron analizados 12 aislados de los cuales 10 pertenecían a la especie *L. (V.) braziliensis* y 2 a *L. (L.) infantum*. Estos aislados fueron analizados en el contexto de 4 cepas de referencia y 18 genomas. Tanto la reconstrucción filogenética de las secuencias concatenadas como de los haplotipos obtenidos mostraron una clara organización de los aislados de acuerdo a la taxonomía del género. Los 2 aislados de *L. (L.) infantum* presentaron un 100% de homología con las cepas de referencia europeas mientras que se obtuvo una primera aproximación de variabilidad genética en función de la distribución geográfica de los aislados de la especie *L. (V.) braziliensis* ya que el aislado más distante de la colección presentó dos haplotipos exclusivos dentro de la colección analizada. Estos resultados se ajustan a la historia de casos causados por *L. (V.) braziliensis* en la región.

Se propone a futuro ampliar el set de genes housekeeping en un número mayor de aislados de manera de obtener un esquema multilocus que logre un poder discriminatorio más elevado para la descripción de variantes genéticas del género.

MR8.3- RELACIÓN DE LOS GENOTIPOS DE *TOXOPLASMA GONDII* AISLADOS EN ARGENTINA CON LA SALUD ANIMAL Y SALUD PÚBLICA

Maria C Venturini⁽¹⁾, Lais L. Pardini^(1,2), Gastón Moré^(1,2), Juan Manuel Unzaga¹

⁽¹⁾Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. ⁽²⁾CONICET. La Plata, Argentina. E-mail: cventuri@fcv.unlp.edu.ar

Toxoplasma gondii es un protozoo de localización intracelular que afecta a mamíferos y aves, que se encuentra distribuido mundialmente. Tiene un ciclo evolutivo indirecto facultativo, los félidos son los hospedadores definitivos y numerosas especies de mamíferos y aves son los hospedadores intermediarios. La caracterización molecular de *T. gondii*, ha permitido identificar en Europa y América del Norte 3 genotipos denominados I, II y III, que pueden estar asociados a características biológicas o fenotipos expresados en términos de virulencia, patogenicidad o desarrollo *in vitro*. Sin embargo en Sudamérica y en particular en Brasil, se ha demostrado una mayor diversidad genética, identificando aislamientos atípicos. En el Laboratorio de Inmunoparasitología, desde hace más de 15 años se están desarrollando métodos de diagnóstico directos, como el aislamiento del protozoo a partir de muestras de tejidos provenientes de diferentes especies de animales domésticos y de zoológico y más recientemente se han obtenido los primeros aislamientos a partir de infecciones congénitas en humanos. La caracterización molecular de los mismos se ha realizado utilizando 9 marcadores con métodos de *nested-PCR-RFLP*. Son particularmente interesantes desde el punto de vista epidemiológico los aislamientos atípicos I-III obtenidos de pollos con infección subclínica y I-II-III aislado de abortos de cabras, considerando que la mayoría de las cepas aisladas patógenas para el ratón y relacionadas con infecciones oculares severas para el hombre son del tipo I o combinaciones I-III. Hasta 2015 se realizaron 34 genotipificaciones provenientes de aislamientos del parásito o bien de ADN, 18 de ellos identificados como atípicos. Se demostró que los pollos criados en traspatio son excelentes indicadores de la contaminación ambiental con ooquistes. Sería importante relacionar los genotipos hallados en animales con los que recientemente se han identificado en seres humanos, determinado el origen y distribución de los mismos. El riesgo de infección y el tipo de manifestaciones clínicas de la población humana y animal podrían verse influenciados por las condiciones del medio ambiente que habitan. Dado que en Argentina se encuentran genotipos típicos y atípicos, los estudios de caracterización molecular que se están llevando a cabo nos permitirán conocer más profundamente la epidemiología regional de la toxoplasmosis.

MR8.4- EPIDEMIOLOGIA DE INFECCIONES POR *BABESIA BOVIS* Y *B. BIGEMINA* DE BOVINOS Y BÚFALOS DE AGUA CRIADOS JUNTOS EN CAMPOS HIPERENDÉMICOS

Dora Romero-Salas^(1*), Anabela Mira^(2*), Juan Mosqueda⁽³⁾, Zeferino García-Vázquez⁽⁴⁾, Mario Hidalgo-Ruiz⁽³⁾, Noot A Ortiz Vela⁽¹⁾, Adalberto Perez de León⁽⁵⁾, Monica Florin-Christensen^(2,6), Leonhard Schnittger^(2,6).

*Contribuyeron igualmente al trabajo

⁽¹⁾Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Veracruz, Mexico. ⁽²⁾Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA-Castelar. ⁽³⁾Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Juriquilla, México. ⁽⁴⁾Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México. ⁽⁵⁾USDA-ARS Knippling-Bushland, Kerrville, Texas, USA. ⁽⁶⁾CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. E-mail: schnittger.leonhard@inta.gob.ar

Babesia bovis y *B. bigemina* son agentes causales de babesiosis bovina, una enfermedad transmitida por garrapatas en regiones tropicales y subtropicales, que afecta severamente la salud del ganado y genera pérdidas económicas considerables en todo el mundo. En situaciones hiperendémicas, se desarrolla una estabilidad enzoótica en la que los animales no muestran síntomas pero están crónicamente infectados con parasitemias extremadamente bajas. Además de los bovinos, los búfalos de agua también pueden infectarse con ambas especies de *Babesia*, resultando en infecciones inaparentes. En este estudio se determinó y comparó la tasa de infección (por PCR) y la inmunidad del rodeo (por IFAT) de bovinos y búfalos de agua criados bajo las mismas condiciones en campos de un área de estabilidad enzoótica. Para optimizar la detección directa de los parásitos, se desarrollaron nuevos ensayos de PCR anidada (nPCR) para cada uno de los dos patógenos. Se observaron porcentajes de seropositividad significativamente más bajos en búfalos de agua que en bovinos para *B. bovis* (71,4 % vs. 98 %) y *B. bigemina* (85 % vs. 100 %). Estas diferencias fueron considerablemente más pronunciadas cuando la detección de los parásitos fue directa por nPCR (16,2 % vs. 82,3 % y 24 % vs. 94,1 % para *B. bovis* y *B. bigemina*, respectivamente). Como era esperado, los bovinos sujetos a controles sanitarios mostraron una tasa de infección significativamente más baja determinada por nPCR comparada con la de bovinos no criados bajo estas medidas (*B. bovis* 33,3 % vs. 90,7 %; *B. bigemina* 80 % vs. 96,5 %). Sin embargo, no se observaron diferencias entre estos grupos con respecto a seropositividad, sugiriendo tasas similares de exposición al parásito. Por nPCR, se determinó que la infección de búfalos de agua con ambos parásitos era significativamente más alta cuando fueron criados juntos con bovinos sin controles sanitarios que cuando fueron criados con bovinos bajo control sanitario o sin bovinos. Se observaron algunas diferencias en las tasas de infección y seropositividad con respecto a edad y género que merecen estudios adicionales. En resumen, nuestras observaciones indican que los búfalos de agua son mucho más capaces de limitar y eliminar las infecciones con *Babesia* spp., posiblemente por tener una defensa inmune más eficiente. Además, la presencia de reservorios bovinos de *Babesia* spp. parece aumentar las tasas de infección de búfalos de agua criados en los mismos campos.



Comunicaciones Orales (CO)

CO1- Coordinadores: Claudio Pereira - Vanina Alvarez

ByBM26- TOXOPLASMA GONDII TGJ1 (TYPE I HSP40) RELOCALIZES TO PARASITE PELLICLE DURING GLIDING

Jonathan Múnera López, MJ Figueras, María Corvi, Sergio O Angel.

IIB-INTECH.

BYBM37- ADAPTACIÓN DE TRYPANOSOMA VIVAX AMERICANO A LA TRANSMISIÓN MECÁNICA: REMODELACIÓN DEL KINETOPLASTO

Gonzalo Greif⁽¹⁾, Matías Rodriguez, Armando Reyna-Bello, Carlos Robello, Fernando Alvarez-Valín.

⁽¹⁾Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay.

ByBM58- ANÁLISIS DE PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN EL CICLO CELULAR DE TRYPANOSOMA CRUZI

Santiago R Chávez García⁽¹⁾, Guillermo Eastman, Pablo Smircich, José R Sotelo Silveira, Beatriz Garat, María A Duhagon Serrat.

⁽¹⁾Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

CO2- Coordinadora: Soledad Santini

EyV13- ESTADO ACTUAL DE LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS PIRETROIDES EN TRIATOMA INFESTANS (REDUVIIDAE: TRIATOMINAE) DE DIFERENTES PROVINCIAS ARGENTINAS

Georgina Fronza⁽¹⁾, Ariel C Toloza, María I Picollo, Gastón A Mougabure Cueto.

⁽¹⁾Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas, CONICET-CITEDEF.

DyQ2- LEISHMANIOSIS CANINA: ESTUDIO DIAGNÓSTICO TRANSVERSAL EN PERROS DE ÁREA ENDÉMICA DE LA PROVINCIA DE MISIONES, ARGENTINA

Diego Eiras, M Leila Marín⁽¹⁾, M Cecilia Nevot, Gastón A Moré, Andrea Dellarupe.

⁽¹⁾Laboratorio de Inmunoparasitología. Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, La Plata, Buenos Aires.

DyQ29- EFECTO SINÉRGICO ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI DE BENZNIDAZOL COMBINADO CON CLOMIPRAMINA

Mónica C García⁽¹⁾, Nicolás E Ponce, Liliana M Sanmarco, Rubén H Manzo, Héctor W Rivarola, Alvaro F Jimenez-Kairuz, M Pilar Aoki.

⁽¹⁾Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA)-CONICET. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.

DyQ19- TRATAMIENTO INTERMITENTE DE BENZNIDAZOL COMBINADO CON ALOPURINOL EN LA INFECCIÓN CRÓNICA MURINA POR T. CRUZI NICARAGUA (TcN)

Lujan Scalise, Marcela Rial, Mónica I Esteva, Jacqueline Búa, Nilda Prado, Adelina Riarte, Laura E. Fichera.

INP Dr. M. Fatala Chaben ANLIS/Malbrán.

CO3- Coordinador: Juan Mucci

IyP2- LAS PROTEÍNAS DE SUPERFICIE TCTASV-C DE TRIPOMASTIGOTES DE TRYPANOSOMA CRUZI SE SECRETAN MAYORITARIAMENTE EN VESÍCULAS PEQUEÑAS

Lucas Caeiro, Daniel O Sánchez, Valeria Tekiel.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo A. Ugalde", IIB-INTECH, UNSAM CONICET.

IyP9- ACTIVATION OF DENDRITIC CELLS BY *GIARDIA* VARIANT-SPECIFIC SURFACE PROTEINS (VSP) AND VSP-PSEUDOTYPED VIRUS-LIKE PARTICLES

Lucía L. Rupil, Marianela C. Serradell, Román A. Martino, Pablo R. Gargantini, Hugo D. Luján.

Center for Research and Development in Immunology and Infectious Diseases (CONICET), Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, School of Medicine, Catholic University of Cordoba. Cordoba. Argentina.

IyP4- *TRYPANOSOMA CRUZI* POTENCIA LA POLARIZACIÓN ALTERNATIVA DE MACRÓFAGOS EN TEJIDO ADIPOSITO VISCERAL Y FAVORECE LA PROGRESION A DIABETES EN RATONES OBESOS

María E. Cabalén, María F. Cabral, Marta C. Andrada, Liliana M. Sanmarco, María P. Aoki, Susana Gea, Roxana C. Cano^(1,2).

⁽¹⁾*Facultad de Ciencias Químicas, UA Área CS. AGR. ING. BIO Y S CONICET. Universidad Católica de Córdoba, Córdoba.*

⁽²⁾*Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Córdoba.*

CO4- Coordinadores: Henrique Ferreira y Mara Rosenzvit

ByBM18- EL ANTÍGENO B DE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*: UNA PROTEÍNA DE UNIÓN A LÍPIDOS EN LA INTERFAZ HOSPEDERO-PARÁSITO

Ana Maite Folle⁽¹⁾, Valeria Silva-Álvarez, Eduardo S Kitano, Leo K Iwai, Ana M Ferreira.

⁽¹⁾*Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias/Facultad de Química, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay.*

ByBM30- ANÁLISIS DE LA SECRECIÓN DE VESÍCULAS EXTRACELULARES EN *MESOCESTOIDES CORTI*

María E Ancarola⁽¹⁾, Antonio Marcilla, Carolina Poncini, Mara Rosenzvit, Marcela Cucher.

⁽¹⁾*IMPAM, Universidad de Buenos Aires.*

IyP1- ANTIBODY-DEPENDENT CELLULAR CYTOTOXICITY MECHANISMS: ROLE IN BALB/C AND C57BL/6 MICE DIFFERENTIAL SUSCEPTIBILITY TO *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* INFECTION

Gustavo Mourglia Ettlin, Sylvia Demattei.

Cátedra de Inmunología Facultad de Química Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

DyQ13- ESTUDIO *IN VIVO* DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA DE NANOCRISTALES DE ALBENDAZOLE SOBRE EL ESTADIO LARVAL DE *ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS*

Patricia Pense⁽¹⁾, Alejandro Paredes, Clara M Albani, Daniel Allemandi, Sergio Sanchez Bruni, Santiago D Palma, María C Elissondo.

⁽¹⁾*Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. CONICET*

CO5- Coordinadores: Vanina Álvarez - Claudio Pereira

ByBM1- COMPARATIVE SECRETOME ANALYSIS OF TWO *TRYPANOSOMA CRUZI* STRAINS DURING THE EMERGENCE OF TRYPOMASTIGOTES FROM CELLS

Jean-Yves Brassas⁽¹⁾, George Palazon, Manuel Chapelle, Luc Paris, Dominique Mazier, Ernesto Gullin, Margarita Bisio, Jaime Altchek.

⁽¹⁾*Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMRS1135, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de Parasitologie-Mycologie. Paris, France.*

ByBM36- *TRYPANOSOMA CRUZI* PROTEIN LIPOILATION PATTERN IS MODIFIED BY THE LIPOATE BIOSYNTHESIS/SALVAGE INHIBITOR 8-BROMO-OCTANOATE AND ITS METHYL DERIVATIVE

Paola Vacchina, Daniel A Lambruschi, Antonio D Uttaro.

IBR-CONICET.

ByBM60- INTERACTOMA REDOX DE *TRYPANOSOMA CRUZI*: EL PAPEL DE LAS TRIPARREDOXINAS

María D Piñeyro⁽¹⁾, Diego G Arias, Adriana Parodi-Talice, Alberto A Iglesias, Sergio A Guerrero, Carlos Robello.

⁽¹⁾Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo: Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo-Uruguay.

CO6- Coordinador: Sergio Sosa Estani

DyQ36- COMPARACIÓN DE NUEVOS MÉTODOS DE AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA DE ADN (LAMP Y RPA-LF) PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA POR *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Rocío Rivero⁽¹⁾, Alejandro Castellanos-Gonzalez, Omar Saldarriaga, Elsa B Velázquez, Mónica I Esteva, Margarita Bisio, Bruno Travi, Andrés M. Ruiz.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben.

DyQ38- FORMULACION MAGISTRAL DE BENZNIDAZOL: TRATAMIENTO EN CHAGAS CONGENITO

María A. Serjan⁽¹⁾, María T. Orcinoli, Karenina Scollo.

⁽¹⁾Htal Juan A. Fernandez, CABA

DyQ8- TRANSFERENCIA DE ESTRATEGIAS MOLECULARES PARA EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS CONGÉNITO AL SISTEMA SANITARIO PÚBLICO NACIONAL: ENSAYO DE IMPLEMENTACIÓN

Carolina I Cura, Juan C Ramírez, Constanza López Albizu⁽¹⁾, Karenina Scollo, Sergio Sosa-Estani.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chaben", ANLIS "Dr. Carlos G. Malbran".

DyQ18- DIAGNÓSTICO DE CHAGAS CONGÉNITO: ¿PODEMOS MEJORAR EL ALGORITMO DE TRABAJO?

Romina Volcovich, Nicolás González, Samanta Moroni, Guillermo Moscatelli, Griselda Ballering, Margarita Bisio, Indira D Amico, Facundo García Bournissen, Jaime Altcheh.

Servicio de Parasitología y Chagas – Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires.

CO7- Coordinadora: Fernanda Frank

IyP6- EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA CELULAR HACIA *TRYPANOSOMA CRUZI* EN PACIENTES CON SEROLOGÍA DISCORDANTE

Melisa D. Castro Eiro⁽¹⁾, María G. Alvarez, Gretchen Colley, Rodolfo Viotti, María C. Albareda, Marcos Petti, Rick L. Tarleton, Susana Laucella.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. M. Fatała Chaben".

IyP14- ESTRATEGIAS DE INMUNIZACIÓN "PRIME – BOOST" EN RATONES COMBINANDO VECTORES VIRALES NO REPLICATIVOS QUE EXPRESAN UN MULTIANTÍGENO CONTRA *BABESIA BOVIS*

José M. Jaramillo Ortiz, Martina S Paoletta, María P Molinari, María J Gravisaco, María P Del Médico, Silvina E Wilkowsky.

Laboratorio de Hemoparásitos. CICVyA- INTA, Castelar.

IyP17- MITOCONDRIAS DE MÚSCULO ESQUELÉTICO Y FRACCIÓN LINFOMONOCITARIA COMO MARCADORES DE DAÑO MIOCÁRDICO EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Alejandra L. Báez, María S. Lo Presti, María N. Reynoso, Paola C. Bazán, Mariana Strauss, Noemí Miler, Daniela A. Velazquez Lopez, Hector W. Rivarola, Patricia A. Paglini.

Centro de Estudios e Investigación de la enfermedad de Chagas y Leishmaniasis. Fac de Ciencias Médicas. U.N.C. Córdoba, Argentina. INICSA-CONICET.

CO8- Coordinadora: M. Victoria Cardinal

DyQ3- EVALUACIÓN DE TSSA COMO MARCADOR DE EFECTIVIDAD EN EL TRATAMIENTO CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Virginia Balouz⁽¹⁾, Luciano J Melli, Romina Volcovich, Guillermo Moscatelli, Samanta Moroni, Nicolas Gonzalez, Andrés E Ciochini, Carlos A Buscaglia, Jaime Altcheh.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones Biotecnológicas “Dr. Rodolfo A. Ugalde” (UNSAM-CONICET), Buenos Aires.

DyQ11- DESARROLLO DE UN NUEVO ANTÍGENO MULTIEPITOPE PARA OPTIMIZAR EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS

Luz Peverengo⁽¹⁾, Valeria Garcia, Bruno Belluzo, Andrea Racca, Luz Rodeles, Miguel Vicco, Luis Gugliotta, Claudia Lagier, Verónica Gonzalez, Iván Marcipar.

⁽¹⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Sante Fe, Argentina.

DyQ15- PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EXTERNO PARA EL MONITOREO POR PCR EN TIEMPO REAL EN ENSAYOS CLINICOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Juan C Ramirez⁽¹⁾, Rudy Parrado, Elena Sulleiro, Sandro Villarroel, Anabel de la Barra, Marcelo Rodríguez, Lucia Irazu, María de los A Curto, Lineth García, Israel Molina, Isabela Ribeiro, Alejandro G Schijman.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI-CONICET),

EyV24- INFECCIONES ÚNICAS Y MÚLTIPLES POR *TRYPANOSOMA CRUZI* Y SU ASOCIACIÓN CON LOS ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

María Laura Bizai⁽¹⁾, Lorena V Olivera, Florencia Petroli, Mariana Baroni, Antonella Simonetto, Elena Ross, Gustavo Fossaroli, Marcelo Leguizamón, Diana Fabbro, Cristina Diez.

⁽¹⁾Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales-FBCB-UNL.

SECCIÓN: EPIDEMIOLOGÍA Y VECTORES (EyV)

EyV1- CARACTERIZACIÓN HEMATOLÓGICA Y EPIDEMIOLÓGICA DE LA HEPATOZOONOSIS CANINA EN EL SUR DEL GRAN BUENOS AIRES

Diego F Eiras^(1,2), Carla F Scodellaro^(2,3), Darío Vezzani^(4,5).

⁽¹⁾Laboratorio de Inmunoparasitología. Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP. ⁽²⁾Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Banfield, Buenos Aires. ⁽³⁾Laboratorio Central. FCV, UNLP. ⁽⁴⁾Instituto de Ecología, Genética y Evolución (CONICET-UBA), Ciudad Universitaria, Buenos Aires. ⁽⁵⁾CONICET. E-mail: bpleiras@gmail.com

La hepatozoonosis canina es una enfermedad parasitaria transmitida por garrapatas, causada por protozoarios del género *Hepatozoon* (Apicomplexa, Eucoccida). En Argentina, fue detectada recién en 1999 y *Hepatozoon canis* fue identificado como agente etiológico en 2007. Con el objetivo de caracterizar la enfermedad en perros del sur del Gran Buenos Aires, se analizaron los resultados del hemograma en 100123 muestras clínicas de sangre canina, remitidas entre 2002-2013 al Laboratorio DIAP. La presencia de gamontes de *Hepatozoon* se detectó mediante observación microscópica de frotis sanguíneos coloreados con May Grünwald-Giemsa. Se registraron 2328 (2,3%) muestras positivas, observándose el parásito generalmente en neutrófilos y más raramente en monocitos (menos del 1 % de las veces). La parasitemia fue elevada (> de 800 gamontes/ μ l), moderada (entre 100 y 800) y baja (< 100) en el 29,2%, 46,7% y 18,6% de las muestras, respectivamente. El 56,9% de los casos presentó anemia, que se clasificó en no regenerativa (69,7%), regenerativa (18,6%) y muy regenerativa (11,7%). Si bien solo el 36,3% tenía leucocitosis, el 74,1% de los perros parasitémicos presentaba leucograma inflamatorio (constatable en la fórmula leucocitaria absoluta como neutrofilia con o sin leucocitosis, neutrofilia con o sin desvío a la izquierda y desvío a la izquierda con o sin neutrofilia). Desde la perspectiva epidemiológica, se registró una marcada variación estacional de la prevalencia, con máximas en verano (hasta 5,9%) y mínimas en invierno (entre 0,1 y 0,7%). La prevalencia fue significativamente mayor en perros machos ($X^2=48.548$ $P<0.001$), de razas mestiza ($x^2=385.650$ $P<0.001$), y menores de 1 año ($X^2(2)= 68.29$, $P<0.001$). El presente estudio demuestra que la infección por *H. canis* es endémica en el sur del Gran Buenos Aires, y que más del 50% de los perros infectados presentan anomalías hematológicas y niveles de parasitemia entre medianos y altos. La hepatozoonosis debe ser considerada como parte del diagnóstico de rutina, especialmente en los meses cálidos donde hay mayor abundancia de garrapatas.

EyV2- CARACTERIZACIÓN DE PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR VECTORES EN CANINOS DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL, ECUADOR

Diego Eiras^(1,2), Ernesto J. Olaya Martínez⁽³⁾, Gastón A Moré^(1,4).

⁽¹⁾Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Banfield, Buenos Aires. ⁽²⁾Laboratorio de Inmunoparasitología. Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP. ⁽³⁾Laboratorio Diagnovet, Guayaquil, Ecuador. ⁽⁴⁾CONICET. E-mail: bpleiras@gmail.com

Las enfermedades transmitidas por vectores en caninos son causadas por distintos patógenos (bacterias, protozoarios y helmintos), cuya transmisión depende de la bionomía y distribución de ciertos vectores competentes (garrapatas, flebótomos, mosquitos, etc.). El presente trabajo tuvo como objetivo detectar la presencia y describir los hallazgos hematológicos asociados a la infección con patógenos de transmisión vectorial en 500 muestras de perros de la ciudad de Guayaquil (Ecuador), utilizando técnicas hematológicas y posterior confirmación con técnicas moleculares. Mediante microscopía óptica se detectó una tasa de infección general del 8%, conformada por piroplasmas intraeritrocitarios, mórulas intraleucocitarias y microfilarias circulantes en el 5%, 2,2% y 0,8% respectivamente. No se registraron coinfecciones con esta metodología. Se realizó PCR específica para los 3 grupos de patógenos y las secuencias obtenidas de los productos de amplificación se compararon con las secuencias reportadas en el Genbank. Se obtuvo 100% de identidad con *Babesia vogeli* en 3 de las muestras con piroplasmas intraeritrocitarios. Además, el tratamiento con enzimas de restricción de los amplicones de todos los positivos a piroplasmas (25 muestras) mostró un patrón de corte característico para la misma especie. Por otro lado, se obtuvo un 99-100% de identidad con *Ehrlichia canis* en las muestras que presentaron mórulas intraleucocitarias. Para finalizar, en 3 de las 4 muestras con microfilarias se obtuvo 99-100% de identidad con *Dirofilaria immitis* y 100% de identidad con *Dipetalonema (Acanthocheilonema) reconditum* en la muestra restante. En los animales infectados, las principales alteraciones hematológicas detectadas fueron: anemia, policromasia, trombocitopenia, y presencia de macroplaquetas y monocitos activados. El presente estudio constituye la primer descripción molecular de *B. vogeli*, *E. canis*, *D. immitis* y *A. reconditum* en perros de la ciudad de Guayaquil.

EyV3- EPIDEMIOLOGÍA DE LA CRIPTOSPORIDIOSIS EN TERNEROS DE RODEOS LECHEROS

Carlos J Garro⁽¹⁾, Gabriel E Morici⁽¹⁾, Maren Ebinger⁽²⁾, Mariela L Tomazic^(1,3), Leonhard schnittger^(1,3).

⁽¹⁾INTA. ⁽²⁾Asesor privado. ⁽³⁾CONICET. E-mail: garro.carlos@inta.gob.ar

Con el objeto de contribuir al conocimiento de la epidemiología de *Cryptosporidium spp.* en terneros de rodeos lecheros se realizó un estudio observacional transversal. Se investigó la relación entre la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* con la falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTI) y la paridad de la madre (múltiparas versus primíparas). Muestras fecales fueron extraídas de 120 terneros de entre 1 y 77 días de edad pertenecientes a 5 rodeos lecheros. Los corrales de maternidad de vacas primíparas y múltiparas estaban separados. El diagnóstico de *Cryptosporidium spp.* se realizó mediante frotis directo de materia fecal utilizando la tinción de Kinyoun. Se evaluó la FTI a través de la determinación de las proteínas séricas totales ($\leq 5,5$ g/dL) por refractometría en la sangre de todos los terneros de entre 2 y 8 días de edad. El análisis se realizó por regresión logística utilizando el programa Statistix. El 25% (27/120) de los terneros fueron positivos a *Cryptosporidium spp.* La edad media de los terneros positivos fue de 12 días (mínimo= 6; máximo= 21), indicando que la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* ocurre principalmente entre la segunda y tercer semana de vida. La FTI en terneros no estuvo asociada a la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* (OR= 0,67; IC95%= 0,26-1,68; P= 0,3903). Ese resultado, en consistencia con la literatura, sugiere que la inmunidad pasiva no protegería frente a la infección por *Cryptosporidium spp.* Los terneros nacidos de vacas múltiparas tuvieron 10 veces (OR= 9,7; IC95%= 2,7-34; P= 0,0004) más chances de excretar ooquistes de *Cryptosporidium spp.* en relación a los terneros nacidos de vacas primíparas. Los resultados sugieren que los terneros podrían adquirir la infección durante las horas subsiguientes al parto y que los corrales de maternidad de vacas múltiparas tendrían una mayor contaminación ambiental con ooquistes de *Cryptosporidium spp.* que los corrales de vacas primíparas.

EyV4- ESTUDIO DE LA TASA DE INFECCIÓN EN BOVINOS POR ESPECIES DEL GÉNERO *TRYPANOSOMA* EN ARGENTINA MEDIANTE PCR

Martina S Paoletta⁽¹⁾, Carlos Luciani⁽²⁾, Ludmila S López Arias⁽¹⁾, María V Rossner⁽²⁾, Marisa D Farber⁽¹⁾, Silvina E Wilkowsky⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Biotecnología, INTA. ⁽²⁾EEA INTA Col. Benitez, Chaco. E-mail: paoletta.martina@inta.gob.ar

La tripanosomiasis causa pérdidas económicas en la ganadería de regiones tropicales y subtropicales. Las especies causantes son *T. vivax* y *T. evansi*, patógenos de bovinos y equinos respectivamente. *T. theileri* no es patógeno aunque puede ser virulento en presencia de otros parásitos. En Argentina los reportes de *T. vivax* se basan sólo en la observación microscópica de frotis. El objetivo del trabajo fue realizar un relevamiento de la presencia de tripanosomas bovinos en Argentina a nivel molecular para detectar e identificar las especies presentes. Se tomaron 92 muestras de sangre en 2 establecimientos de Formosa. Se amplificó por PCR una región del gen 18SrRNA parcialmente conservada entre especies que permitió su identificación por secuenciación y realizar estudios filogenéticos. Con las secuencias se realizó una búsqueda por BLASTn, alineamientos con ClustalW y árboles de máxima similitud con el software MEGA. Se observó una alta tasa de infección (39%) por tripanosomas en la región encontrándose *T. vivax* (12%) y *T. theileri* (15%); no se halló *T. evansi*. Además se encontraron diferencias en la distribución de las especies entre los establecimientos. El análisis filogenético mostró que ambas especies se agrupan en ramas diferenciadas: en *T. theileri* la secuencia obtenida resultó idéntica entre todos los aislamientos y en *T. vivax* las muestras se distribuyen en 2 grupos filogenéticamente separados. Sorprendentemente en ambos establecimientos se identificaron 12 muestras con una secuencia distinta a *T. vivax* y *T. theileri* con un 91% de identidad con una especie de tripanosoma no identificada. Estas muestras forman un grupo separado del resto sugiriendo la existencia de una nueva especie de tripanosoma bovino aún no descripta. Este trabajo constituye un primer relevamiento molecular de la presencia de tripanosomas bovinos en Argentina. Estudios posteriores permitirán analizar su distribución en otras regiones y confirmar la identidad del nuevo grupo identificado.

EyV5- PHLEBOTOMINAE (DIPTERA: PSYCHODIDAE) EN EL ESTRATO HORIZONTAL Y VERTICAL, EN UNA ZONA INUNDABLE DE LA PROVINCIA DEL CHACO, ARGENTINA

Matías A Parras⁽¹⁾, Juan R Rosa⁽¹⁾, Enrique A Szelag⁽¹⁾, Daniel O. Salomón⁽²⁾.

⁽¹⁾Instituto de Medicina Regional - Universidad Nacional del Nordeste. ⁽²⁾Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT). E-mail: parrasmatias@gmail.com

Los flebotomos son vectores naturales de protozoarios del género *Leishmania*, los cuales son agentes etiológicos de la leishmaniasis tegumentaria y visceral. En el bosque subtropical el suelo y la copa de los árboles pueden ser vistos como diferentes hábitats, con componentes físicos y biológicos distintos, y precisamente uno de los criterios para incriminar a las especies de *Phlebotominae* como potenciales vectores de Leishmaniasis para el hombre, es el período de alimentación a nivel del suelo. Estudiar la distribución de especies vectores en varios niveles de estratificación vertical, aporta datos para determinar el grado de interacción *Phlebotominae*/fuente de alimentación. Se seleccionaron dos viviendas habitadas en la localidad de Puerto Antequeras (27° 26' 34"S, 58° 50' 57"O), que presenten las características de "peor escenario epidemiológico". En cada una se escogieron tres árboles en el bosque, distantes 100 mts. entre sí, siguiendo una transecta

en profundidad desde el peridomicilio. En cada uno de los árboles se colocaron mensualmente dos trampas de luz tipo CDC de una noche de permanencia (19:00 a 9:00hs), a 1,5 mts. y 10 mts. de altura. De enero a diciembre del 2012 se capturaron 26068 *Phlebotominae* en el estrato horizontal, registrándose: *Nyssomyia neivai* (98,64%), *Migonemyia migonei* (0,82%), complejo *cortelezzii* (0,43%), *Brumptomyia brumpti* y *Nemopalpus sp.* (0,05%), *Lutzomyia longipalpis* (0,01%) y *Psathyromyia shannoni* (0,004%). Mientras que en el trato vertical se capturaron 1460 ejemplares, correspondientes a: *Ny. neivai* (95,27%), *Mg. migonei* (3,36%), complejo *cortelezzii* (1,1%), *Lu. longipalpis*, *Br. brumpti*, *Micropygomyia quinquefer* y *Nemopalpus sp* (0,07%). Estos resultados permiten resaltar la presencia de especies vectores de Leishmaniasis Tegumentaria y Visceral en la zona, en proximidad al ser humano y los animales. Se destaca la gran abundancia de *Ny. neivai* y la presencia de *Lu. longipalpis* tanto en el estrato horizontal como en el vertical.

EyV6- CRIADEROS NATURALES DE PHLEBOTOMINAE (DIPTERA: PSYCHODIDAE) EN UNA ZONA INUNDABLE DE LA PROVINCIA DEL CHACO, ARGENTINA

Matías A Parras⁽¹⁾, Enrique A Szilag⁽¹⁾, Juan R Rosa⁽¹⁾, Daniel O Salomón⁽²⁾.

⁽¹⁾Instituto de Medicina Regional - Universidad Nacional del Nordeste. ⁽²⁾Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT). E-mail: parrasmatias@gmail.com

La mayor parte de los estudios sobre flebotominos relacionados con la leishmaniasis se refieren a trabajos de abundancia y diversidad de los imagos y su papel vectorial, pero poco se sabe de sus sitios de preferencia para la realización del ciclo biológico en condiciones naturales. Una de las razones se debe a que estos sitios son extremadamente difíciles de hallar, principalmente debido a las dificultades de extracción de los estados inmaduros de las muestras de suelo y materia orgánica donde se los puede encontrar. Se seleccionaron dos viviendas habitadas en la localidad de Puerto Antequeras (27°26'34"S, 58°50'57"O), que presenten las características de "peor escenario epidemiológico". En cada una se instalaron 20 trampas de emergencia modificadas a partir del diseño de Casanova (2013), distribuidas en el domicilio (base de paredes externas de la vivienda), peridomicilio (gallineros, corrales y caniles) y bosque (base y oquedades de árboles, base de Bromeliaceae y troncos caídos). Las trampas fueron verificadas cada 15 días, permanecieron en el sustrato durante 60 días y luego fueron reubicadas dentro del mismo ecotopo y punto de muestreo. Este procedimiento se repitió durante 2 años consecutivos. Desde abril de 2013 hasta abril de 2015 se obtuvieron 13 ejemplares adultos de *Nyssomyia neivai* (8 machos y 5 hembras). Estos se distribuyeron entre 6 trampas de las cuarenta instaladas en total entre las dos viviendas. De estas trampas, dos correspondieron al peridomicilio (gallinero) y las cuatro restantes al bosque (dos ubicadas en base de árbol, una en oquedad de árbol y una en base de tronco caído). Se estimó una producción de 3,60 flebotomos/100m²/día. Conocer y caracterizar los sitios de cría aplicando varias técnicas asociadas, permitirá el desarrollo de diseños específicos para conocer la distribución espacial de riesgo del vector en áreas vulnerables, así como también proponer y evaluar medidas de intervención comunitaria (ambiental) e institucional (química).

EyV7- LEISHMANIASIS VISCERAL EN EL NEA Y LOS CONOCIMIENTOS DE ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS FORMOSEÑOS DE CIENCIAS DE LA SALUD. AÑO 2014

Diana Iris Muracciole, Alejandro Romero, Claudia Rodriguez, Maria de los A López, Margarita Murdoch.

Universidad Nacional de Formosa. E-mail: irismura@hotmail.com

INTRODUCCIÓN: La leishmaniasis visceral (LV), antroponosis grave, potencialmente letal y epidémica, registra unos 500 mil casos nuevos y 50 mil muertes por año en el mundo. Las migraciones, reservorios (perros), la complejidad de la prevención y la coinfección con VIH facilitan la transmisión del agente causal -protozoario del género *Leishmania*, por picaduras de flebotómicos del género *Lutzomyia*- en áreas urbanas, afecta más a mujeres y menores de 14 años. **OBJETIVO:** Describir la situación actual de LV en el Noreste Argentino (NEA) y el nivel de conocimientos sobre la enfermedad de alumnos avanzados de las carreras de técnicos de laboratorios clínicos y de enfermería de la FCS-UNaF. **METODOLOGIA:** Estudio cuantitativo-descriptivo que analiza datos nacionales de las enfermedades de notificación obligatoria y de las encuestas autoadministradas a 104 estudiantes de la FCS-UNaF. **RESULTADOS:** Del año 2.006 al 2.014 el NEA reporta 113 personas con LV. Son 101 de Misiones, 12 de Corrientes y ninguna de Chaco y Formosa. En el año 2.008 el 8,4% de los perros de Clorinda (Formosa) eran positivos a LV. De los estudiantes encuestados, el 66% acusa un nivel de conocimientos sobre LV entre regular e insuficiente (de 20 respuestas correctas propuestas reconoce menos de 10). El 37% identifica la etiología, 22% al vector; 33% la clínica, 38% el diagnóstico, 11% el tratamiento y 10% al grupo de riesgo. **CONCLUSIONES** En el panorama de aumento progresivo de LV previsto por la OMS a nivel mundial, de presentaciones de casos humanos y caninos hallados positivos en el NEA, el desconocimiento encontrado en los estudiantes encuestados - cuidadores de la salud en formación- compromete la eficiencia asistencial, promoción y prevención de la LV. Estos datos fueron el insumo del diagnóstico inicial y para el diseño de ajustes por parte de las áreas correspondientes. La reiteración de la encuesta en las próximas cohortes, permitirá evaluar los cambios por ellas introducidos.

EyV8- TOXOPLASMOSIS: CONOCIMIENTOS Y PREVALENCIA EN ALUMNOS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE FORMOSA, AÑO 2.013

Diana Iris Muracciole, Alejandro Romero, María de los A López.

Universidad Nacional de Formosa. E-mail: irismura@hotmail.com

La toxoplasmosis, de amplia difusión mundial, está presente en el 60% de la población Argentina. Autolimitada en personas inmunocompetentes, resulta severa en el recién nacido de madre primoinfectada durante la gestación. La prevalencia en embarazadas de Formosa varía de 49,8% en el año 2.000 a 37,5% en el 2.008. Esta disminución aumenta el riesgo a primoinfección en el embarazo e incrementa la necesidad de contar con equipos de salud competentes para concientizar a la población sobre el control de gestantes negativas. Para establecer el nivel de conocimientos sobre toxoplasmosis en estudiantes de la FCS-UNaF y la prevalencia de anticuerpos en este grupo, se realiza un estudio cuantitativo-descriptivo. Mediante encuesta autoadministrada a 358 alumnos de las carreras de Enfermería, Bromatología, Nutrición y Tecnicatura de Laboratorio Clínico, se obtienen datos personales y de conocimientos sobre Toxoplasmosis. Se estableció la seroprevalencia en 203 participantes que aceptaron realizarse la prueba de hemoaglutinación indirecta para toxoplasmosis. Se apreció que: 70% era menor de 30 años, cada 3 mujeres participó un varón, 80% estudia enfermería, 52% presenta un nivel regular de conocimientos. Los mecanismos de prevención y transmisión son respectivamente reconocidos en un 22% y 30% por los Técnicos Análisis Clínicos, 18% y 22% por los Enfermeros y 0% por Bromatología. 41% de las serologías resultaron Toxoplasmosis positivas. En conclusión el estudiante promedio participante del estudio, es mujer, de menos 30 años de edad, cursante de enfermería, con un nivel de conocimientos sobre Toxoplasmosis entre regular e insuficiente. Y uno de cada 2,5 evidenció infección Toxoplásmica, condición desconocida por la mayoría. Estos hallazgos permiten ajustar las intervenciones para que la Universidad asegure transferir conocimientos de excelencia, que distinguirán la calidad del servicio que presten sus egresados en la promoción, prevención y cuidado de la salud.

EyV9- EL ZORRO GRIS PAMPEANO (*LYCALOPEX GYMNOERCUS*) HOSPEDADOR INTERMEDIARIO DE *SARCOCYSTIS SVANAI* N. SP (APICOMPLEXA: SARCOCYSTIDAE)

Nathalia P Scioscia^(1,2), Dadín P Moore⁽²⁾, Gastón Moré^(3,2), Yanina P Hecker⁽²⁾, Ignacio Gual⁽⁴⁾, Laura Gos^(3,2), Guillermo M Denegri^(1,2).

⁽¹⁾Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMDP. ⁽²⁾CONICET. ⁽³⁾Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. ⁽⁴⁾Becario de Iniciación PICT 2011-1179 MINCYT. E-mail: nathyvet@hotmail.com

Los protozoarios del género *Sarcocystis* son parásitos intracelulares causantes de infecciones en una amplia variedad de hospedadores en todo el mundo. Los carnívoros/omnívoros domésticos y silvestres son hospedadores definitivos (HD) de varias *Sarcocystis* spp., y eliminan esporocistos por materia fecal. Estos son la fuente de infección para los hospedadores intermedios (HI, la mayoría herbívoros) en los que se producen quistes tisulares (QT). Sin embargo, se han hallado QT en cánidos silvestres y domésticos. El objetivo de este estudio fue identificar QT de *Sarcocystis* spp. en diferentes músculos del zorro gris pampeano (*Lycalopex gymnocercus*). Se necropsiaron 25 zorros en el acopio de Azul, durante la temporada de caza comercial habilitada (2012-2013) en Provincia de Buenos Aires. Se tomaron muestras de los tejidos musculares (lengua, diafragma, masetero, semitendinoso y corazón). Una alícuota fue fijada en formol tamponado al 4% durante 48 horas, para su posterior análisis histopatológico; la otra se mantuvo a -20°C hasta su homogeneización, observación microscópica y análisis molecular. La histopatología reveló la presencia de quistes compatibles con el género *Sarcocystis*, en el 60% (15/25) de los zorros analizados. Mediante homogeneización y observación de pool de músculos se observaron QT en 4 animales. Se realizó PCR al ADN extraído de quistes individuales y de pool de músculos; se obtuvieron un total de 13 muestras positivas. Se seleccionaron 7 amplificados que fueron purificados y secuenciados. Las secuencias consenso obtenidas (~ 750 pb) fueron idénticas entre ellas y mostraron un 99% de identidad (solo una base de diferencia) con la secuencia de *Sarcocystis svanai* n sp. Esta especie fue descrita y diagnosticada solo en músculo de perros y está asociada con severas miositis y hepatitis en este hospedador. Este es el primer reporte de *S. svanai* n sp. en músculos de cánidos silvestres.

EyV10- EL ZORRO GRIS PAMPEANO (*LYCALOPEX GYMNOERCUS*) COMO HOSPEDADOR DEFINITIVO DE *SARCOCYSTIS* SPP. EN ARGENTINA

Nathalia P Scioscia^(1,3), Gastón Moré^(2,3), Dadín P Moore⁽³⁾, Laura Gos^(2,3), Yanina P Hecker⁽³⁾, Ignacio Gual⁽⁴⁾, Guillermo M Denegri^(1,3).

⁽¹⁾Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMDP. ⁽²⁾Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, La Plata. ⁽³⁾Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. ⁽⁴⁾Becario de Iniciación PICT 2011-1179 MINCYT. E-mail: nathyvet@hotmail.com

Sarcocystis spp., son protozoarios parásitos causantes de infecciones en diferentes animales de todo el mundo. Los cánidos son hospedadores definitivos (HD) de varias especies de *Sarcocystis* con una amplia variedad de hospedadores intermediarios (HI), en los que se producen quistes tisulares. El zorro gris pampeano (*Lycalopex gymnocercus*) es uno de los carnívoros más abundantes de las áreas rurales de la provincia de Buenos Aires (Bs As) y se desconoce su rol en la epidemiología de diversas infecciones producidas por protozoos. El objetivo de este estudio fue identificar esporocistos/ooquistes de *Sarcocystis spp.* presentes en materia fecal (MF) y en intestino delgado (ID) (raspado intestinal) de *L. gymnocercus* de la provincia de Bs As, mediante técnicas coproparasitológicas y estudios moleculares. Se colectaron 131 MF (recuperadas del recto) y 33 muestras de ID. Las muestras fueron analizadas por medio de una técnica coprológica de flotación; las muestras con ooquistes/esporocistos fueron sometidas a sedimentación en agua y concentración por flotación. Se extrajo el ADN a partir de alícuotas del sedimento con un kit comercial. Se realizó PCR dirigida a un fragmento del gen 18S rRNA (~850 bp). Los amplicones fueron purificados y secuenciados. La infección por *Sarcocystis spp.* se detectó en el 13% (17/131) de las MF y en el 36% (12/33) de los ID analizados. Hasta el momento, las secuencias consenso obtenidas de las muestras positivas mostraron $\geq 99\%$ de identidad con *S. albifrons* y/o *S. anasi* (n=3), *S. rileyi* (n=1), *S. tenella* (n=1) y *Cytoisospora ohioensis* (n=1); 100% (n=2) y 97% (n=1) de identidad con *S. cruzi*; 100% con *S. miescheriana* (n=1) y 98% con *S. turdusi* (n=1). Se identificaron molecularmente numerosas especies que tienen como HI a bovinos, aves, cerdos y ovinos entre otros. Este estudio representa el primer reporte de *L. gymnocercus* como HD de varias especies de *Sarcocystis* en Argentina.

EyV11- ABUNDANCIA Y PREFERENCIA EN LA ELECCION DEL CRIADERO EN BASE AL COLOR DEL RECIPIENTE DE AEDES AEGYPTI Y CULEX QUINQUEFASCIATUS, EN COLON, ENTRE RIOS

Nicolas Flaibaní⁽¹⁾, Ignacio Matias Barbero⁽¹⁾, Nora Edith Burroni⁽¹⁾, Mailen Soledad García Fernandez⁽²⁾.

⁽¹⁾Grupo de Estudio en Mosquitos, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad de Buenos Aires-Instituto de Ecología, Genética y Evolución. ⁽²⁾Laboratorio de Neuroetología CICYTTP-CONICET. E-mail: n.flaiba@hotmail.com

Aedes aegypti (Ae) y *Culex quinquefasciatus* (Cq) son mosquitos domiciliarios y de importancia sanitaria. Conocer más sobre sus sitios de cría puede ayudar a su control. Se estimó la abundancia de estas especies en Colón, Entre Ríos y se analizó la posible preferencia en el color de los recipientes para la oviposición. En 2014 (marzo-abril) se visitaron 207 viviendas en Colón, se censaron los recipientes que pudieran contener agua y se registró: presencia de agua, inmaduros de mosquitos y color del recipiente. Los mosquitos se colectaron e identificaron taxonómicamente. Se calculó para cada especie la media de criaderos (MC=n° criaderos/n° viviendas visitadas), el % de infestación de viviendas (IV) y de recipientes (IR). Los colores se categorizaron en: amarillo-naranja-rojo (ANR), blanco (B), celeste-verde (CV), negro-gris (NG), marrón (M), transparente (T) y violeta-azul (VA). Se estudió la relación entre el color y presencia de cada especie con un análisis de correspondencia (AC). Se encontraron 774 recipientes totales, 527 con agua y 132 tenían inmaduros de Ae (IR=25) y 33 de Cq (IR=6,3). La MC fue de 0,64 (Aa) y 0,16 (Cq), en tanto que la IV resultó de 23,7 (Ae) y 13,5 (Cq). La mayor disponibilidad de sitios de cría (RA) por color fue: B 25%, NG 21%, M 20%, VA 12%. Pero el porcentaje de ocupación respecto de esta oferta fue para Ae: 37% NG, 32% VA, y para Cq: 14% NG y 11% VA. El AC explicó el 31,86% de la variabilidad y mostró una asociación entre la presencia de inmaduros de ambas especies y los colores VL y NG. Los resultados hallados sugieren una cierta preferencia de las hembras de Ae y Cq en la oviposición por sitios de colores oscuros. En el caso de Ae es consistente con otros autores, en el caso de Cq existe muy escasa información, algunos lo citan como ecléctico para este carácter y otros coinciden con estos colores. Por su parte, los altos valores del MC, IR e IV para Ae indicarían una situación de riesgo para la transmisión de dengue para esta ciudad.

EyV12- CASOS DE NEUROCISTICERCOSIS DIAGNOSTICADOS EN LA CIUDAD DE MAR DEL PLATA

Julia Fabbri⁽¹⁾, Federico Ibañez^(2,3), Daniela Giraudi^(2,3), Carla Farías^(2,3), Yanina Pérez de Villareal⁽²⁾, Solange Francard⁽²⁾, Carlos Capiel^(2,4), Joaquín Averbach^(2,3), María C Elisondo⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Zoonosis Parasitarias - FCEyN - UNMDP. CONICET. ⁽²⁾Facultad de Medicina, UFASTA. ⁽³⁾Hospital HIGA Alende. ⁽⁴⁾Instituto Radiológico Mar del Plata. E-mail: julia_fabbri@hotmail.com

La neurocisticercosis (NCC) es la infección del sistema nervioso central causada por el cestode *Taenia solium*. La Argentina no es considerada un país endémico para esta enfermedad. Los fenómenos migratorios de países limítrofes han generado la presencia de casos importados, y el asentamiento de portadores de la parasitosis en nuestro país ha provocado la aparición de casos autóctonos. Debido a que no es una enfermedad de denuncia obligatoria, no existen registros oficiales. El objetivo de este trabajo fue estudiar la epidemiología de la NCC en la ciudad de Mar del Plata (MDP), Provincia de Buenos Aires. Se analizaron historias clínicas de pacientes diagnosticados con NCC en MDP, tomando como principal centro de salud el Hospital Interzonal General de Agudos "Dr. Oscar Eduardo Alende" (HIGA), el cual es el centro de salud de referencia para la Zona Sanitaria VIII de la Provincia de Buenos Aires. Se accedió a la historia clínica de 14 pacientes diagnosticados con NCC, muchas de las cuales estaban incompletas en relación a las variables estudiadas. Nueve son de nacionalidad boliviana y 5 de nacionalidad argentina. Siete de los pacientes residen en MDP hace más de 2 años y 3 residen

solo unos meses al año (el resto del año regresan a Bolivia). El promedio de edad al momento del diagnóstico fue de 35 años. Ocho pacientes debieron ser internados y a 4 se les realizó tratamiento ambulatorio. Sólo uno requirió cirugía. El síntoma de presentación más común fue la convulsión, seguido de cefalea. El tratamiento antiparasitario de elección fue albendazol 400 mg c/12 hs. Algunos pacientes también recibieron tratamiento con esteroides y/o tratamiento antiepiléptico. La mayoría de los pacientes presentaron entre 1-5 quistes, siendo la localización más común la parenquimática. La presencia de casos humanos evidencia la presencia del ciclo del parásito en la zona. Deberían planificarse estudios prospectivos para determinar las zonas de riesgo e instrumentar medidas de control.

EyV13-CO2- ESTADO ACTUAL DE LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS PIRETROIDES EN *TRITOMA INFESTANS* (REDUVIIDAE: TRIATOMINAE) DE DIFERENTES PROVINCIAS ARGENTINAS

Georgina Fronza⁽¹⁾, Ariel C Toloza⁽¹⁾, María I Picollo⁽¹⁾, Gastón A Mougabure Cueto⁽²⁾.

⁽¹⁾Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas, CONICET-CITEDEF, Buenos Aires, Argentina. ⁽²⁾Centro de Referencia de Vectores (CeReVe) DETV-MSAL. E-mail: georginafronza@gmail.com

La vinchuca *Triatoma infestans* (Klug, 1834) es el principal vector en la Argentina del *Trypanosoma cruzi*, causante de la Enfermedad de Chagas. La reducción de la transmisión vectorial se basa en el control químico de triatomos con insecticidas piretroides como la deltametrina. En los últimos años, se detectaron en Argentina y Bolivia poblaciones con alta resistencia, manifestándose a través de una alta infestación en las viviendas tratadas y en fallas de control a campo. El objetivo del presente trabajo es presentar el estado actual de la resistencia a deltametrina en distintas provincias de la zona endémica. Los estudios toxicológicos se llevaron a cabo mediante la aplicación tópica de soluciones de los insecticidas sobre ninfas I. Las muestras analizadas de las provincias de Mendoza, San Juan, Tucumán y Santiago del Estero resultaron ser susceptibles a deltametrina. En el Departamento Gral. Güemes, Chaco, se encontró un perfil toxicológico complejo, caracterizado por poblaciones susceptibles, de resistencia incipiente y alta resistencia, todas ellas geográficamente muy cercanas. Dada la proximidad de estas últimas a otros parajes en los que se detectaron previamente grados de resistencia elevados y muy variables, se confirma la existencia y persistencia de un foco de resistencia, con extensión aún no definida, en los alrededores de la Ciudad de J.J. Castelli. Todas las poblaciones resistentes a deltametrina resultaron susceptibles a fenitrotión, indicando a este insecticida como la alternativa para el control de las poblaciones señaladas. Se discute la importancia de profundizar el estudio de este foco resistente y aportar al conocimiento de los diversos mecanismos que generan resistencia en las distintas poblaciones. De esta manera, es posible optimizar las estrategias de control químico en un área del Gran Chaco argentino particularmente problemática en cuanto a la evolución de la resistencia a insecticidas en *T. infestans*.

EyV14- CARACTERÍSTICAS DE LOS MÚSCULOS ASOCIADOS AL VUELO Y ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE LAS ALAS EN *TRITOMA INFESTANS* (HEMIPTERA, REDUVIIDAE)

Viviana S Sayago⁽¹⁾, Julieta Nattero⁽²⁾, Liliana Crocco⁽¹⁾.

⁽¹⁾Centro de Investigaciones Entomológicas, IIByT (Universidad Nacional de Córdoba-CONICET), Córdoba, Argentina.

⁽²⁾Laboratorio de Eco-Epidemiología, IEGEBA (Universidad de Buenos Aires-CONICET), Buenos Aires, Argentina. E-mail: vivianasayago@yahoo.com.ar

En *Triatoma infestans*, el mecanismo más importante de dispersión y principal estrategia de colonización es el vuelo (Galvão et al. 2001. Mem Inst Oswaldo Cruz 96: 137-140). Este depende del estado nutricional, la funcionalidad de las alas, músculos asociados, y se ha demostrado que poblaciones de hábitos más estables presentan una disminución en la capacidad de vuelo. Se propone determinar si entre poblaciones de esta especie de laboratorio y de ambientes peridomésticos existen diferencias en el desarrollo de los músculos alares y en la morfología de las alas. Se utilizaron adultos de *T. infestans* obtenidos a partir de ninfas de V estadio de una población de campo (grupo A, n= 30) y una colonia criada en laboratorio desde el año 1984 (grupo B, n=21). Se evaluó: presencia/ausencia de músculos alares, relación entre peso de la masa muscular y corporal (índice de masa muscular) y estado nutricional. Para los análisis morfométricos se incluyó conformación y tamaño de las alas y para evaluar inestabilidad en el desarrollo de cada grupo se estimó la asimetría fluctuante de las alas (AF). Los resultados mostraron que del total de individuos (n=51) un 43% presentaron músculos alares y entre éstos (n=22) el 90% pertenecen al grupo A y 9% al grupo B. No se encontraron diferencias en el estado nutricional entre insectos con y sin músculo. El índice de masa muscular fue mayor en insectos con músculo ($t= 4,891$; $p<0,001$). Los análisis morfométricos de alas indicaron que no hay diferencias significativas en el tamaño de alas pero si en forma. Los machos con y sin músculo alar presentaron AF para la forma del ala. Se puede concluir que existe una mayor presencia de músculo de vuelo en los individuos de campo corroborando la idea de una mayor capacidad de vuelo en insectos de éste hábitat. Estas diferencias no estarían asociadas a variables nutricionales ni a diferencias morfométricas entre los grupos ni entre sexos. Estos resultados aportan evidencias respecto a la capacidad dispersiva en diferentes ambientes confirmando la alta plasticidad de esta especie.

EyV15- PARASITOSIS CANINA EN VIVIENDAS Y ESPACIOS PÚBLICOS DE LA CIUDAD DE SALTA Y SU RELACIÓN CON ENFERMEDADES ALÉRGICAS EN NIÑOS

Malvina Tolaba, Olga Sanchez Negrete, Maximiliano Gómez, Lucía Pintos, Nadia Sulca, Daniela Gutierrez.

Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta. E-mail: malvina_tolaba@hotmail.com

La contaminación de los suelos con materia fecal de perros es un problema de magnitud considerable en cualquier parte del mundo. La creciente adquisición de perros como animales de compañía ha aumentado el número de personas expuestas al riesgo de contraer zoonosis y la población infantil constituye el grupo de mayor riesgo por los hábitos de jugar con los perros, geofagia, andar descalzo, abrazar o dejarse lamer o morder por sus mascotas. Nos planteamos como Objetivos: Determinar la prevalencia a huevos de parásitos en materias fecales de perros recolectados en domicilio y espacios públicos de la ciudad de Salta. Aplicar en los niños pruebas cutáneas y anamnesis a fin de determinar la presencia de enfermedades alérgicas. Realizar análisis hematológicos y serológicos a fin de determinar marcadores de enfermedades alérgicas y/o de toxocarosis. Conocer las condiciones socioambientales, de viviendas, tenencia de mascotas y grado de conocimiento de las zoonosis de las familias de los niños sujetos de estudio. Resultados: Prevalencia de huevos de parásitos en materias fecales de perros: se obtuvo la mayor prevalencia para *Toxocara canis* 40% (14/35), seguidos por *Ancylostoma* y luego por *Trichuris*. La prueba cutánea de Prick, aplicada a 196 niños detectó Asma: 26 (13,26%), Rinitis: 39 (19,89%), Eccema: 14 (7,14%), Sensibilidad a alérgenos: 46 (23,47%), Atopia clínicamente significativa: 35 (17,85%), Eosinofilia: 54 (27,55%). Se realizó dosaje de Ig E en 78 muestras de suero, y 37 mostraron valores por encima del rango normal. Actualmente estamos en proceso de evaluación de encuestas socioambientales y del grado de conocimiento de zoonosis por parte de las familias.

EyV16- ESTADO NUTRICIONAL, REPRODUCTIVO Y PERFIL ALIMENTARIO EN POBLACIONES PERIDOMICILIARIAS DE TRIATOMA INFESTANS DEL DEPARTAMENTO CRUZ DEL EJE, PROVINCIA DE CORDOBA

Carola Soria⁽¹⁾, Claudia S Rodríguez⁽²⁾, Julieta Nattero⁽³⁾, Ana G López⁽¹⁾, Florencia Carnicero⁽¹⁾, Miriam Cardozo⁽¹⁾, María F Quintanilla⁽⁴⁾, Lilián E Canavoso⁽⁴⁾, Liliana B Crocco⁽²⁾.

⁽¹⁾Cátedra Introducción a la Biología, Facultad Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.

⁽²⁾Cátedra Introducción a la Biología, IIByT (CONICET/UNC), Facultad Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba. ⁽³⁾Laboratorio de Eco-Epidemiología, IEGEBA (Universidad de Buenos Aires-CONICET), Buenos Aires, Argentina. ⁽⁴⁾Departamento de Bioquímica Clínica, CIBICI- CONICET, FCQuím, UNC. Córdoba, Argentina. E-mail: calusrodriguez@gmail.com

El oeste de la provincia de Córdoba (Argentina) presenta un escenario complejo para la enfermedad de Chagas, con riesgo moderado de transmisión vectorial y presencia de *Triatoma infestans* en domicilios y peridomicilios. Considerando que peridomicilio infestado pueden significar reinfestación o colonización del domicilio, se evaluaron factores entomológicos relacionados a dispersión de adultos de *T. infestans* en 7 localidades rurales del Depto. Cruz del Eje (Córdoba, Argentina). Se colectaron 119 hembras (♀) y 143 machos (♂) de *T. infestans* en 30 gallineros (104 ♀; 126 ♂), 5 corrales cabra (8 ♀; 12 ♂), 1 de cerdo (2 ♀; 2 ♂) y 6 depósitos (5 ♀; 3 ♂). Para cada insecto se definió estado nutricional (mg/mm) (EN=peso/longitud) y reproductivo (ER=n° huevos corionados/♀), y perfil alimentario (técnicas inmunoquímicas para identificación de fuente alimentaria: gallina, perro, humano, cabra). El EN de hembras (12,31±3,39) fue mayor al de machos (10,09±2,18) (U=5467,0; p<0,001), ambos sin diferencias entre tipos de peridomicilios (hembras H=9,31; p=0,097; machos H=7,97; p=0,157). El 59,6% (71/119) de las hembras presentó un promedio de 11,75±8,03 huevos corionados/♀; el 83,1% (59/71) de estas hembras perteneció a gallineros (8,4% corral cabra, 2,8% de cerdo y 5,6% depósitos) (p=0,03). El análisis preliminar de perfil alimentario realizado sobre 28 triatomos recolectados en gallineros, señaló que un 62,2% se alimentó de gallinas, 21,6% de cabras, 10,8% de humano y 5,4% de perro. El 30,3% de adultos de gallineros cercanos a las viviendas (< 12 m) presentó polifagia (incluyendo sangre humana). Los resultados señalan que los adultos de *T. infestans* presentaron buen EN y ER en todos los tipos de anexos, lo que podría ser evidencia de baja dispersión entre ecotopos. La presencia de polifagia en insectos de gallineros cercanos a la vivienda podría indicar movimiento de adultos entre este anexo peridomiciliar y el intradomicilio. Este trabajo afirma la importancia de la vigilancia entomológica en los peridomicilios para prevenir reinfestación y/o colonización de los domicilios.

EyV17- VARIACIÓN DE LA FAUNA DE PHLEBOTOMINAE (DÍPTERA: PSYCHODIDAE) EN DISTINTOS AMBIENTES DE LA REGIÓN CHAQUEÑA HÚMEDA

Enrique A Szelag^(1,2), Matías A Parras^(1,2), Juan R Rosa⁽¹⁾, Oscar D Salomón⁽²⁾.

⁽¹⁾Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste. ⁽²⁾Instituto Nacional de Medicina Tropical, Ministerio de Salud de la Nación. Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. E-mail: szelag_enrique@yahoo.com.ar

La Leishmaniasis es producida por protozoarios del género *Leishmania* y transmitida por un insecto de la Sub-familia Phlebotominae. La provincia del Chaco presentó en la década de 1990 brotes aislados de Leishmaniasis Cutánea (LC) y actualmente registra casos esporádicos cada vez más frecuentes y dispersos. Con el objeto de determinar la fauna y variación de abundancia de Phlebotominae en distintos ambientes de la región chaqueña húmeda, se consideraron tres áreas de estudio: Resistencia (zona periurbana), Colonia Benítez (área rural de baja modificación antrópica) y Margarita Belén (área rural con alta modificación antrópica). En cada una se seleccionó una vivienda donde se instalaron mensualmente 3 trampas de luz tipo mini CDC (Domicilio, Peridomicilio y borde de Bosque) a 1,5 mts de altura, con permanencia activa durante una noche. De octubre de 2010 a septiembre 2012 se capturaron en total 1498 Phlebotominae, identificándose las siguientes especies en orden de frecuencia: *Migonemyia migonei* (41,1%), *Nyssomyia neivai* (39%), complejo *cortezzei* (9,5%), *Brumptomyia brumpti* (7,1%), *Psathyromyia shannoni* (2,7%), *Sciopemyia sordellii* (0,5%), *Br. avellari* (0,1%). La diversidad específica, fue mayor en sitios con menor modificación antrópica, mientras que los sitios con mayor modificación presentaron mayor abundancia de Phlebotominae. La mayor frecuencia de *Mg. migonei* y *Ny. neivai* se registró en primavera y verano, con picos de abundancia durante los meses de Noviembre-Diciembre y Febrero-Marzo. En conclusión, la presencia de *Ny. neivai*, considerada vector epidémico de LC en Argentina y *Mg. migonei* considerado vector putativo de *Leishmania infantum*, además de su alta abundancia en sitios con mayor modificación antrópica, podría significar un factor de riesgo en la región, haciendo necesarios futuros estudios con el objeto de identificar las condiciones favorables para el desarrollo de estas especies implicadas en la transmisión de LC y Leishmaniasis Visceral.

EyV18- INVESTIGACIÓN DIAGNÓSTICA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* ANTE EL HALLAZGO DE *TRITOMA INFESTANS* EN UNA LOCALIDAD DEL SUR DE LA PROVINCIA DE SANTA FE

Amilcar Bassi⁽¹⁾, *Susana Besuschio*⁽²⁾, *Alejandro Schijman*⁽²⁾, *Claudio Giudici*⁽¹⁾, *Pamela Cribb*⁽³⁾.

⁽¹⁾Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias UNR, Casilda. ⁽²⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, Dr. Héctor N. Torres, (INGEBI), Buenos Aires. ⁽³⁾Cátedra de Parasitología, Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET). E-mail: cribb@br.gov.ar

A partir de un insecto procedente de la zona urbana de la localidad de Fuentes identificado como *Triatoma infestans* en nuestro laboratorio, se decidió profundizar el estudio en busca de posibles focos de triatomos en esta región, ubicada fuera de la zona endémica. En el domicilio de donde procedía el insecto, se halló una colonia importante de vinchucas que fueron remitidas al laboratorio. Se analizó la materia fecal de los insectos colectados y no se encontraron estructuras móviles compatibles con parásitos. Teniendo en cuenta que el perro (*Canis familiaris*) constituye el reservorio doméstico por excelencia del parásito causal de la Tripanosomosis Americana, se decidió estudiar la presencia de *T. cruzi* en perros de esta localidad. Se estudiaron cuatro animales. Se procuró ampliar el número de muestras pero las personas encuestadas negaron poseer perros en ese momento. Se extrajo sangre de perros cuyos domicilios estaban infestados con *T. infestans* para realizar estudios diagnósticos sobre el Mal de Chagas. Los animales se sometieron a una revisión clínica general presentando en ese momento buen estado de salud. Las muestras fueron analizadas por microscopía (gota fresca, gota gruesa, Strout microtubo), por PCR de punto final amplificando una secuencia de minicírculos de ADN del kinetoplasto y por PCR en tiempo real, que detecta un fragmento de secuencia satélite de *T. cruzi* usando sondas TaqMan. No se encontraron estructuras compatibles con *T. cruzi* mediante microscopía en ninguna de las muestras analizadas, mientras que 3 fueron positivas por PCR de punto final y las 4 por PCR en tiempo real. Si bien, el diagnóstico definitivo requiere la obtención de al menos dos resultados coincidentes obtenidos por distintos métodos, los métodos moleculares han demostrado ser pruebas muy sensibles y específicas, por lo que nuestros resultados sugieren la necesidad de un seguimiento epidemiológico basado en acciones interdisciplinarias que aporten resultados concluyentes.

EyV19- ANÁLISIS DEL DIÁMETRO DE LA CAPA LAMINAR Y SU RELACIÓN CON LA FERTILIDAD DE QUISTES HIDATÍDICOS BOVINOS EN PULMÓN E HÍGADO

Karen Strull, *Felipe Corrêa*, *Caroll Stoore*, *Edgar Jiménez*, *Pamela Méndez*, *Ivan Contreras*, *Carlos González*, *Rodolfo Paredes*.

Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile. E-mail: karenstrull@gmail.com

Introducción: La hidatidosis es una zoonosis causada por el estadio larvario del cestodo *Echinococcus granulosus*. Existen dos tipos de quistes hidatídicos; fértiles, que presentan protoescolices en su interior; infértiles, que no producen protoescolices. Sin embargo, existe escasa información en relación a las diferencias microscópicas entre ellos. Objetivo: Determinar el diámetro de la capa laminar (CL) de quistes hidatídicos fértiles e infértiles en pulmón e hígado de bovinos. Material y métodos: A partir de 171 quistes hidatídicos se determinó su estado de fertilidad a través de inspección macro y microscópica. Una porción del quiste fue obtenida e incluida en parafina. Cortes de 5 µm fueron teñidos con hematoxilina-eosina. Las imágenes fueron obtenidas con el microscopio Olympus FSX100 y para la medición del grosor se utilizó el

software FSX-BSW. Resultados: A través de una prueba *t* de student se determinó que los 9 quistes fértiles (203,87±99,87µm) presentan un diámetro de CL significativamente mayor ($p<0.05$), al igual que la CL de quistes fértiles de animales jóvenes (221,64±110,21µm) en relación a los adultos (168,34±81,82µm) ($p>0.05$), lo que sugiere que la edad no sería un factor determinante en el grosor de la CL. Los quistes infértiles presentan grosores significativamente mayor ($p<0.05$) en hígado (246,20±9,79µm) y en pulmón (191,77±111,88µm), lo que sugiere que el diámetro de la CL no estaría asociada claramente al órgano afectado. Conclusión: Los quistes hidatídicos fértiles presentan una CL 5,8 veces más gruesa en comparación con los quistes hidatídicos infértiles en bovinos. Proyecto Fondecyt/Chile n° 1130717.

EyV20- INFECCIONES EXPERIMENTALES DE *BIOMPHALARIA TENAGOPHILA* DE LA CUENCA DEL RIO URUGUAY EN LA PROVINCIA DE CORRIENTES A UNA CEPA DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

Maria J F Rea, C Edgardo Borda, Armando Mosqueda, Osvaldo Benitez.

Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP), Facultad de Medicina, UNNE, Corrientes. E-mail: cenpetrop@hotmail.com

El *Schistosoma mansoni* es una de las infecciones helmínticas más prevalentes en el mundo. Es una enfermedad endémica asociada con cambios medioambientales, como la construcción de represas hidroeléctricas (diques y lagos). En países de América dónde la esquistosomiasis es endémica conocer la distribución geográfica de caracoles del género *Biomphalaria*, es muy importante para la prevención en áreas donde existe riesgo de transmisión. Se presentan las investigaciones sobre caracoles realizados en la provincia de Corrientes en la cuenca del río Uruguay. Los moluscos fueron colectados en arroyos, bañados, esteros, cañadas y represas de Mercedes, Paso de los Libres, CuruzúCuatiá, General San Martín, Monte Caseros y Santo Tomé. Se identificaron tres especies: *Biomphalaria tenagophila*, *B. straminea* y *B. orbigny* en 13 aguas superficiales. Ninguno eliminó cercarias de *Schistosoma mansoni*. *B. tenagophila* se colectó en tres departamentos y se formaron colonias de ocho lugares. De cada uno de estos lugares 50 de sus descendientes fueron expuestos individualmente a 10 miracidios del *S. mansoni*. Resultaron susceptibles seis poblaciones de esos tres departamentos: Paso de los Libres (represa Mirungá); Mercedes dos arroyos y una represa (Aguacerito, Curupicay y Copra) y en Curuzú Cuatiá (San Celestino y Remanso). El índice de infección para *B. tenagophila* varió entre 2 a 11% y el periodo prepatente entre 31-66 días. La sobrevivencia más breve después del periodo prepatente se observó en los caracoles del Remanso y el más prolongado, de 66 días, en un ejemplar de San Celestino, con un promedio diario de eliminación de cercarias de 190 días. En la Cuenca del río Uruguay en la provincia de Corrientes se presenta un significativo potencial de transmisión de la esquistosomiasis, pues fueron encontradas las dos especies conocidas como hospederos intermediarios de la esquistosomiasis en el Brasil: *B. tenagophila* y *B. straminea* y seis poblaciones de la primera fueron susceptibles a la infección experimental con *S. mansoni*.

EyV21- DISTRIBUCIÓN DE FLEBOTOMOS EN UNA VIVIENDA DE LA CIUDAD DE CORRIENTES

Mirta L Mierez, Maria J F Rea, C Edgardo Borda, Luis A Mosqueda.

Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP), Facultad de Medicina, UNNE. Corrientes. E-mail: cenpetrop@hotmail.com

Los flebotomos son dípteros responsables de la transmisión de la leishmaniasis y el estudio de su actividad puede ser de utilidad para clarificar su biología y determinar su relación con los posibles reservorios del parásito. La provincia de Corrientes presenta una alta prevalencia de leishmaniasis tegumentaria en humanos y leishmaniasis visceral en perros. En esta ciudad se han encontrado varias especies de *Lutzomyia*, entre las que se destaca a *Lutzomyia longipalpis*. En esta especie en el 2013 se identificó *L. amazonensis* por PCR en el Brasil.

Continuando investigaciones sobre esta especie en una vivienda de zona urbana de esta ciudad, se presentan las variaciones en la distribución de los flebotomos en dos hábitats de una vivienda donde se identificó *Lu. longipalpis*. La pesquisa se efectuó en el peridomicilio donde se hallaban mamíferos (conejos) y aves (palomas y gallinas). Desde enero a diciembre de 2014 se realizaron 89 capturas, totalizando 1.068h de trabajo, con cuatro trampas luminosas CDC (dos en cada hábitat) instaladas semanalmente durante tres noches y expuestas por 12h (19h a 7h). Se calcularon valores medios mensuales de temperatura, humedad y precipitación total. Se obtuvieron 5.798 flebotomos del género *Lutzomyia*, 4.820 (83%) machos, 925 (16%) hembras y 53 (1%) ejemplares sin poder identificar el sexo debido al deterioro de la muestra). La relación macho/hembra fue de 5,2: 1. El 72% se colectó en el sitio donde se encontraban conejos y palomas, y un frondoso árbol (*Ficus auriculata*) que protegía de la luz solar directa, mientras que el 28% restante en el gallinero, donde hay material orgánico, vegetación arbórea, arbustos y plantas de jardín pero más expuestos al sol. Estos estudios mostraron variaciones en la distribución de *Lutzomyia* de acuerdo a la presencia de animales domésticos en la casa y las características del microambiente que favorecieron al mantenimiento de sus criaderos. Esto sugiere la necesidad de considerar de manera integrada, los indicadores entomológicos y la gestión ambiental como condición para las acciones de control eficaces.

EyV22- DETECCIÓN DE TRIPANOSOMAS EN TELEOGINAS DE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* COLECTADAS EN BOVINOS DE GDOR. VIRASORO, PROVINCIA DE CORRIENTES

Sofía AM de la Fournière⁽¹⁾, Néstor F Sarmiento⁽²⁾, Martina S Paoletta⁽¹⁾, Eliana C Guillemi⁽¹⁾, Silvina E Wilkowsky⁽¹⁾, Marisa D Farber⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Hemoparásitos, Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA. ⁽²⁾Sanidad Animal, EEA-INTA Mercedes, Corrientes. E-mail: delafourniere.sofia@inta.gob.ar

Las infecciones causadas por los tripanosomas bovinos constituyen un problema sanitario para el desarrollo de la ganadería bovina en zonas tropicales y subtropicales. En Argentina fue reportada la presencia de *Trypanosoma vivax* en sangre de búfalos y bovinos de la provincia de Formosa, no así la presencia de *T. theileri*, cuya patogenicidad *per se* no está demostrada salvo en infecciones mixtas. Si bien los tábanos son los transmisores principales, hay reportes que postulan a las garrapatas de los géneros *Hyalomma*, *Haemaphysalis* y *Rhipicephalus* como vectores. En el contexto de un relevamiento de epidemiología molecular de hemoparásitos que afectan a los bovinos, se detectó la presencia de tripanosomátidos en hemolinfa de garrapatas, colectadas sobre bovinos sanos de un establecimiento de la localidad de Gdor. Virasoro. El hallazgo se realizó luego de inspeccionar por microscopía óptica (100X) extendidos de hemolinfa provenientes de 67 teleoginas, en dos de los cuales fue posible identificar mayormente epimastigotes y en menor cantidad otros estadios. Las características morfológicas de los epimastigotes observados fueron gran vacuolización y tamaño medio de 31.7 µm sin contar la porción libre del flagelo. A su vez 12 teleoginas fueron procesadas para extracción de ADN y PCR seguida de secuenciación de un fragmento del gen 18SrRNA conservado entre especies y que contiene una región hipervariable. Hasta el momento, los resultados permitieron identificar 4 muestras positivas para *T. theileri*, 1 positiva para *T. vivax* y 1 muestra con 93% de identidad con un tripanosoma hallado en una garrapata del género *Haemaphysalis*. En este trabajo se reporta por primera vez la detección por métodos moleculares de *T. theileri*, *T. vivax* y otros tripanosomas en teleoginas de *R. microplus* de la provincia de Corrientes y se pone de relevancia la necesidad de profundizar la búsqueda de patógenos que puedan amenazar la productividad de la ganadería en regiones endémicas para las garrapatas.

EyV23- HÍBRIDOS EXPERIMENTALES ENTRE *TRITOMA INFESTANS* Y *TRITOMA PLATENSIS* (NEIVA) (HEMIPTERA:REDUVIDAE): EFICIENCIA REPRODUCTIVA

Ana Graciela López⁽¹⁾, Claudia S Rodríguez⁽¹⁾, Patricia A Lobbia⁽²⁾, Liliana B Crocco⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIBYT- CONICET/UNC), Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, U.N.C, Córdoba, Argentina. ⁽²⁾Programa Nacional de Chagas. E-mail: alopez@efn.uncor.edu

Triatoma infestans junto con *Triatoma platensis* cuando conviven en hábitats peridomésticos, tienen la capacidad de generar híbridos fértiles. A fin de evaluar la capacidad reproductiva de estos híbridos este trabajo tuvo como objetivo determinar la eficiencia reproductiva y compararla con la de las especies parentales. Metodología: se realizó el seguimiento de 18 parejas de híbridos hasta la muerte de las hembras. Se registró semanalmente: nº de espermatoforos, nº de huevos puestos, inicio y fin de la ovipostura y mortalidad de los adultos. Del total de parejas formadas el 88.8% (n=16) de las hembras ovipusieron. Se calcularon los siguientes parámetros reproductivos: fecundidad total (nº huevos/hembra/vida), fecundidad específica (nº huevos/hembra/semana), Fertilidad (% huevos eclosionados). Los datos obtenidos fueron comparados con datos de *T. infestans* y *T. platensis* en las mismas condiciones de experimentación. Resultados y conclusiones: Las oviposturas se iniciaron a los 21.62 días de conformada la pareja. La fecundidad total fue significativamente menor (56.06 huevos) que *T. infestans* (132.61) y *T. platensis* (276). Sin embargo la fecundidad específica fue mayor en los híbridos con 9.8 huevos/hembra/semana; *T. infestans* 4.6 y *T. platensis* 6.6. La longevidad de las hembras fue menor 188.5 días, *T. infestans* 316.6 y *T. platensis* 286.5. Al igual que en *T. infestans* y *T. platensis* a mayor ingesta mayor número de huevos puestos (coeficiente r=0.68 significativo 0.005). Los resultados señalan que los híbridos entre *T. infestans* y *T. platensis* producen huevos fértiles aunque su eficiencia en término de fecundidad y fertilidad es baja comparando con los parentales. Para el caso particular de híbridos fértiles, estudios sobre cuál es su potencial reproductivo así como su competencia vectorial, son fundamentales a fin de evaluar su importancia epidemiológica.

EyV24-CO8- INFECCIONES ÚNICAS Y MÚLTIPLES POR *TRYPANOSOMA CRUZI* Y SU ASOCIACIÓN CON LOS ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

María Laura Bizai⁽¹⁾, Lorena V Olivera⁽¹⁾, Florencia Petrolí⁽²⁾, Mariana Baroni⁽²⁾, Antonella Simonetto⁽²⁾, Elena Ross⁽³⁾, Gustavo Fossaroli⁽³⁾, Marcelo Leguizamón⁽³⁾, Diana Fabbro⁽¹⁾, Cristina Diez⁽²⁾.

⁽¹⁾Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales-FBCB-UNL. ⁽²⁾Lab. de Biología Molecular e Inmunología Aplicadas-FBCB. ⁽³⁾Hospital Dr. Juan Bautista Alberdi. E-mail: mlbizai@fbcb.unl.edu.ar

Resulta de interés caracterizar al organismo infectante y estudiar su asociación con diversos antecedentes epidemiológicos por varias razones no excluyentes: asociación con el mecanismo de transmisión, evolución clínica de la enfermedad, susceptibilidad a los antiparasitarios, competencia entre cepas, en el caso de infecciones múltiples. Se realizó tipificación

genética de *T. cruzi* en 90 muestras de sangre de pacientes infectados crónicos, 70 de ellos procedentes de áreas endémicas: Santa Fe (28); Chaco (18); Santiago del Estero (9) y el resto de otras provincias. Mediante encuesta epidemiológica se recopilaron datos de residencia en área endémica, serología materna y transfusiones. Se utilizó MLS-PCR con primers específicos para las UDT TcI, TcII, TcV y TcVI. Se pudieron tipificar 75 muestras. De ellas, 62,7% presentaron infecciones con una única UDT y 37,3% con más de una (múltiples). Como única UDT: 30,7% TcV; 25,3% TcVI; 4% TcI y 2,7% TcII. Se encontró mayor frecuencia -sola o asociada- de TcVI 62,7% seguida de TcV 60%. Cuando se analizó la UDT según procedencia de área endémica: 1) Santa Fe, TcVI 40,5%; TcV 29,7% y TcI 10,8%. 2) Chaco, TcV 55%; TcVI 25% y 20% sin tipificar. En Santiago del Estero se halló igual proporción de TcV y TcVI (46,1%). No se evaluó la proporción de UDT en el resto de pacientes provenientes de otras provincias por el escaso número. Las proporciones de TcV y TcVI entre los pacientes de Santa Fe y Chaco difirieron significativamente ($p < 0,05$).

De los 10 infectados con antecedentes de transmisión congénita tipificados, 9 presentaron TcVI, 6 TcV, 2 TcI y 1 TcII. Hubo 6 infecciones únicas y 4 múltiples, con mayor frecuencia de TcVI (80%) y asociada en todas las infecciones múltiples con TcV. Concluyendo, UDT TcV y TcVI fueron las de mayor frecuencia, pero con una distribución significativamente diferente entre algunas de las provincias evaluadas. Se destaca el alto porcentaje de asociación de estas UDT en infecciones múltiples.

EyV25- COMPETENCIA VECTORIAL DE HÍBRIDOS EXPERIMENTALES ENTRE *TRITOMA INFESTANS* Y *TRITOMA PLATENSIS* (NEIVA) (HEMIPTERA: REDUVIIDAE)

Ana Graciela López, Claudia S Rodríguez, Liliana B Crocco.

Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIBYT- CONICET/UNC), Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, U.N.C. Córdoba, Argentina. E-mail: alopez@efn.uncor.edu

En hábitats peridomésticos como gallineros, se encuentra ocasionalmente ejemplares híbridos de *Triatoma platensis* con *Triatoma infestans*. Con el objetivo de evaluar cuál es la competencia como vector de estos híbridos, el objetivo de este trabajo fue establecer bajo condiciones de laboratorio el patrón de alimentación y excreción en híbridos entre *T. platensis* con *T. infestans*. Metodología: Se utilizaron 54 ninfas híbridos de V estadio obtenidas a partir de cruzamientos experimentales de *T. platensis* con *T. infestans*. Después de un ayuno de 20 días, cada insecto fue alimentado "ad libitum" sobre paloma (*Columba livia* L.) con movimiento restringido. En cada alimentación se registró: tamaño de la ingesta (mg), tiempo de alimentación (min), frecuencia y números de deyecciones durante la comida y 30 minutos post- ingesta. Se realizaron análisis de regresión entre ingesta y tiempo de emisión de las deyecciones. Para comparar con *T. platensis* y *T. infestans* se calcularon el índice de ingesta relativa (tamaño de ingesta (mg)/ peso del insecto (mg)) y el índice de defecación [ID= % insectos que defecaron en 10 min. post-ingesta x media de deyecciones emitidas por insecto en 10 min. / 100]. Resultados y Conclusiones: el tiempo que demoran los híbridos para una ingesta *ad libitum* fue de 12.2 min (3.08) tomando ingestas hasta 6 veces el peso del cuerpo, con un IIR (2.96) similar al registrado para *T. infestans* (2.60) y menor a *T. platensis* (3.9). Del total de ninfas el 94.4% defecó dentro 30 minutos post- ingesta emitiendo entre 1 y 4 deyecciones. Entre las que defecaron el 92% lo realizaron dentro de los primeros 10 minutos, con un valor medio de la primera deyección de 1.54 min (1.85). El ID (1.1) fue similar al de *T. platensis* y menor al de *T. infestans* (1.2). Igual que para *T. infestans* y *T. platensis*, el análisis de regresión entre tamaño de la ingesta y tiempo de emisión de la primera deyección mostró una relación inversa significativa ($R^2 = -0,33$; $n = 47$; $p < 0,01$). Estos resultados indicarían que los híbridos tienen un comportamiento alimenticio y excretor similar a las especies parentales, emitiendo deyecciones tempranas.

SECCIÓN: DIAGNÓSTICO Y QUIMIOTERAPIA (DyQ)

DyQ1- PRESENCIA DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EN ROEDORES SINANTRÓPICOS DE ÁREAS URBANAS Y PERIURBANAS DE LA CIUDAD DE LA PLATA

Juan M Unzaga⁽¹⁾, Lorena De Felice⁽¹⁾, Andrea Dellarupe⁽¹⁾, Bruno Fitte⁽²⁾, Maria R Robles⁽²⁾, Kevin Steffin⁽¹⁾, Graciela Navone⁽²⁾, Maria C Venturini⁽¹⁾.

⁽¹⁾LAINPA, FCV, UNLP. ⁽²⁾CEPAVE-CONICET. E-mail: junzaga2003@yahoo.es

La cryptosporidiosis es una zoonosis ampliamente distribuida a nivel mundial. La presencia de ooquistes en el suelo y agua de bebida constituyen las principales vías de infección. Los roedores sinantrópicos actúan como hospedadores de esta parasitosis y dan cuenta del estado sanitario ambiental como fuente de infección a otros hospedadores, incluido el hombre. El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* en muestras de materia fecal de roedores sinantrópicos en áreas urbanas y periurbanas de la ciudad de La Plata. En el Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores (CEPAVE) y el Laboratorio de Inmunoparasitología FCV-UNLP (LAINPA) se procesaron muestras de materia fecal obtenidas de 16 roedores sinantrópicos (6 *Ratus rattus*, 1 *Ratus norvegicus*, 9 *Mus musculus*) por la técnica de homogeneización en formol al 4% y sedimentación simple. Se realizó la coloración por la técnica de Ziehl Neelsen modificada. Se consideró positivo la identificación de ooquistes ácido-alcohol resistentes de aproximadamente 4 a 6 μ m de

diámetro. De las 16 muestras evaluadas, 4 (25%) resultaron positivas a la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* las cuales correspondieron a muestras de *Ratus rattus*. Estos resultados sugieren que la criptosporidiosis se encuentra presente en roedores sinantrópicos de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de La Plata. Considerando el potencial zoonótico de *Cryptosporidium spp.*, estudios de caracterización molecular son necesarios para evaluar su epidemiología.

DyQ2-CO2- LEISHMANIOSIS CANINA: ESTUDIO DIAGNÓSTICO TRANSVERSAL EN PERROS DE ÁREA ENDÉMICA DE LA PROVINCIA DE MISIONES, ARGENTINA

Diego Eiras^(1,2), M Leila Marín⁽¹⁾, M Cecilia Nevot⁽³⁾, Gastón A More^(1,4), Andrea Dellarupe^(1,4).

⁽¹⁾Laboratorio de Inmunoparasitología. Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, La Plata, Buenos Aires.

⁽²⁾Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Banfield, Buenos Aires. ⁽³⁾Veterinaria Del Oeste, Posadas, Misiones. ⁽⁴⁾Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. E-mail: bpleiras@gmail.com

La leishmaniosis canina (LC) es una enfermedad transmitida por flebótomos causada por un protozoo del género *Leishmania*. Afecta al hombre y otros mamíferos, por lo que la OMS la considera una zoonosis de alto impacto mundial. Los perros son el principal reservorio doméstico de la enfermedad. El diagnóstico veterinario representa un desafío debido a la compleja interacción entre el sistema inmune y el protozoo. Si hay manifestaciones clínicas, la respuesta es generalmente humoral y las técnicas serológicas resultan adecuadas. Si la respuesta es celular o el nivel de anticuerpos bajo, se necesita de una combinación de métodos (directos e indirectos) para obtener resultados confiables. El objetivo de este trabajo fue evidenciar (por citología de médula ósea y serología con técnicas rápidas de 3 marcas comerciales), la presencia de *Leishmania spp.* en caninos de un refugio de la Ciudad de Posadas. En ausencia de gold estándar, se usó inmunofluorescencia indirecta (IFI) a título 160 (IFI-160) como referente de control. De los 169 perros evaluados, 105 (62.1%) tenía al menos 1 signo compatible; 63 animales (37.2%) fueron positivos a IFI-160 y 30 (17.7%) a la citología. El 90% de los positivos se registró en animales sintomáticos. Las concordancias entre IFI-160 y Kalazar detect (Inbios, USA), FASTest Leish (Megacor, Austria) y SNAP Leishmania (Idexx, USA) resultaron entre muy buenas y adecuadas (Kappa=0.83, 0.79 y 0.76 respectivamente). La IFI-160 con la citología tuvo concordancia de grado moderado (kappa= 0.44). Si bien la citología es dificultosa y es menos sensible que la serología, el resultado positivo es confirmatorio. Las pruebas rápidas son de fácil utilización pero recién se obtienen buenas concordancias con títulos moderados. La IFI usada a diluciones bajas podría ser de mucha ayuda en el diagnóstico inicial de LC. Se recomienda que ningún método diagnóstico sea utilizado por sí solo en la toma de decisiones clínicas o sanitarias.

DyQ3-CO8- EVALUACIÓN DE TSSA COMO MARCADOR DE EFECTIVIDAD EN EL TRATAMIENTO CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Virginia Balouz⁽¹⁾, Luciano J Mellí⁽¹⁾, Romina Volcovich⁽²⁾, Guillermo Moscatelli⁽²⁾, Samanta Moroni⁽²⁾, Nicolas Gonzalez⁽²⁾, Andrés E Ciochini⁽¹⁾, Carlos A Buscaglia⁽¹⁾, Jaime Altcheh⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo A. Ugalde" (UNSAM-CONICET), Buenos Aires. ⁽²⁾Servicio de Parasitología-Chagas, Hospital de Niños R.Gutierrez, Buenos Aires. E-mail: virginialbalouz@gmail.com

TSSA (Trypomastigote Small Surface Antigen) es una adhesina de superficie de *Trypanosoma cruzi*. TSSA fue validada como un reactivo alternativo para el serodiagnóstico de la enfermedad de Chagas. En este trabajo, exploramos el uso de TSSA como biomarcador para determinar la efectividad de los tratamientos disponibles. Los métodos actuales, basados en el monitoreo serológico por ELISA contra una mezcla de antígenos nativos (TcELISA) o recombinantes de *T. cruzi*, presentan un desempeño subóptimo debido a su baja especificidad y al largo período necesario para la seronegativización de los pacientes post-tratamiento. Se analizaron 203 muestras provenientes de seguimientos de niños menores a 10 años infectados (n=15) y no infectados (n=15). En niños infectados menores a 1 año (n=7), TSSA acertó el tiempo de seronegativización con respecto a TcELISA (medianas de 5 [rango 2 a 39], y 8 [rango 5 a 64] meses, respectivamente), mientras que en los mayores a 1 año (n=8) ambos test mostraron un desempeño similar. Los niños no infectados (nacidos de madres infectadas) negativizaron antes para TSSA que para TcELISA, por lo que esta molécula podría ser usada como criterio adicional de infección y, en definitiva, de necesidad de tratamiento. Finalmente, la caída en el título de anticuerpos contra TSSA en bebés tratados antes del mes de vida es similar a la de los no infectados nacidos de madre Chagásica, sugiriendo una correlación directa entre la demora en el tratamiento y la aparición de una respuesta inmune humoral contra *T. cruzi*. Estos resultados, indican que el uso de TSSA permitiría acortar los tiempos de seguimiento, reduciendo la 'pérdida' de pacientes debido a la deserción prematura del protocolo. Por otra parte, al reducir los tiempos de determinación de la efectividad, TSSA favorecería la implementación de tratamientos alternativos en caso de ser necesario y permitiría la mejor evaluación de nuevas drogas terapéuticas, una necesidad urgente en la enfermedad de Chagas.

DyQ4- EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA DE ELISA-P38 EN LA IDENTIFICACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE ANIMALES VACUNADOS E INFECTADOS CON *NEOSPORA CANINUM* MODELO MURINO

Lucía M Campero⁽¹⁾, M Rambeaud⁽²⁾, G Moré⁽¹⁾, D Bacigalupe⁽²⁾, A Dellarupe⁽¹⁾, P Zamorano⁽³⁾, JM Unzaga⁽²⁾, MC Venturini⁽²⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP; CONICET. ⁽²⁾Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. ⁽³⁾Instituto de Virología, INTA; CONICET. E-mail: luciacampero@hotmail.com

Neospora caninum es un protozoo Apicomplexa responsable de abortos en bovinos. Considerando la tendencia de las investigaciones de diseñar vacunas vivas para este protozoo, es relevante contar con pruebas diagnósticas capaces de diferenciar animales vacunados de los infectados. El objetivo de este trabajo fue utilizar una prueba de ELISA indirecto con la proteína nativa p38 de *N. caninum* (ELISA-p38) para identificar y diferenciar animales infectados con *N. caninum* y vacunados. Se formaron 4 grupos de 10 ratones inoculados por vía subcutánea: vacunado completo con proteínas solubles totales (VC), vacunado con proteínas solubles sin p38 (VS/p38), control adyuvante (CA), y control PBS (C). En los grupos VC, VS/p38 y CA se utilizó el adyuvante Montanide™ ISA 206 (Seppic, Francia). Los sueros del grupo VC se consideraron como equivalentes a los que se producirían en una infección natural. La producción de anticuerpos se detectó mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA-p38. Los sueros de los grupos VC y VS/p38 fueron positivos ($\geq 1:25$, sin diferencias significativas entre los títulos de ambos grupos, $P=0,5982$) y los controles negativos a IFI. En la prueba de ELISA-p38, los sueros del grupo VC fueron positivos ($>0,0932$) y los del grupo VS/p38 y controles negativos. La serología positiva por IFI del grupo VS/p38 indica la producción de anticuerpos hacia la mezcla antigénica inoculada. Debido a que la proteína p38 estaba ausente en dicho inmunógeno, la serología resultó negativa a la prueba de ELISA-p38 para el grupo VS/p38. La prueba diagnóstica evaluada identificó y diferenció la presencia de anticuerpos en los sueros de ratones vacunados de los sueros de ratones equivalentes a una infección natural. La metodología y resultados aportan información relevante para el diseño de herramientas diagnósticas eficaces para diferenciar animales vacunados e infectados en la neosporosis bovina. Se está evaluando la protección conferida por estas vacunas experimentales frente al desafío con un aislamiento de *N. caninum* de conocida virulencia.

DyQ5- PCR EN TIEMPO REAL Y SEROLOGIA NO CONVENCIONAL PARA EVALUAR EL TRATAMIENTO CON CLOMIPRAMINA EN LA ETAPA CRÓNICA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Paola C Bazán, María S Lo Presti, Mariana Strauss, Alejandra L Báez, Noemí Miler, Blanca H Esteves, Patricia A Paglini, Héctor W Rivarola.

Cátedra de Física Biomédica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. INICSA. CONICET. E-mail: bazankarolina@hotmail.com

El tratamiento de la enfermedad de Chagas (EC) es un tema aún no resuelto, ya que las drogas actualmente disponibles (nifurtimox y benznidazol) son altamente tóxicas. Clomipramina (Clo), no solo es tripanocida "in vitro" sino que también impide la evolución a la fase crónica en modelos experimentales infectados con *T. cruzi*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad del tratamiento con Clo en la etapa crónica de la EC mediante métodos no convencionales: qPCR y serología con antígenos recombinantes individuales (1, 2, 13, 30, 36 y SAPA). Se utilizaron 60 ratones albinos suizos infectados con *T. cruzi*, cepa Tulahuen; se les realizaron electrocardiogramas a los 90 días post infección (dpi), para determinar el ingreso a la etapa crónica cardíaca de la EC, y se dividieron en: un grupo infectado y tratado con Clo (5mg/Kg/día) durante 60 días (T) y otro no tratado (NT). Los grupos fueron analizados mediante: electrocardiografía, PCR convencional, qPCR y serología con antígenos recombinantes totales (ART) e individuales (ARI) a los 90, 180, 270 dpi. Los ratones T presentaron una disminución progresiva de las alteraciones electrocardiográficas, pasando de un 100% al inicio del tratamiento a un 20% a los 270 dpi, frente a un 50% en los animales NT. Se observó mediante PCR convencional que el grupo T presentó mayor porcentaje de PCR positivas que el grupo NT, a los 270 dpi., pero al analizar la qPCR, los ratones T presentaron menor número de parásitos (52 parásitos/ml) que los animales NT (775 parásitos/ml). La serología ART no mostró disminución de anticuerpos luego del tratamiento, no así con los ARI donde el antígeno 13 mostró mayor sensibilidad al tratamiento mostrando una clara disminución en el grupo T. Se puede evidenciar la necesidad del tratamiento en fase crónica de la EC, que la utilización de qPCR y serología con ARI son métodos más sensibles a la efectividad terapéutica y que Clo podría ser un nuevo agente quimioterapéutico para esta enfermedad.

DyQ6- EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIPARASITARIAS DE UN EXTRACTO DE *NARDOPHYLLUM BRYOIDES*

Jesica G. Mild⁽¹⁾, Mariana Sanchez⁽²⁾, Marcia Mazzuca⁽³⁾, Jorge Palermo⁽²⁾, Martin M. Edreira⁽¹⁾.

⁽¹⁾QUIBICEN-CONICET, Dpto. de Química Biológica, FCEN, UBA. ⁽²⁾UMYFOR-CONICET – Dpto. de Química Orgánica, FCEN, UBA. ⁽³⁾Dpto Química, FCN, Universidad de la Patagonia San Juan Bosco. E-mail: mme2@pitt.edu

Trabajos previos identificaron y caracterizaron la interacción entre las proteínas p14 y Sf3b155 del proceso de trans-splicing de *T. cruzi*. Esta interacción constituye un blanco interesante para una potencial terapia antiparasitaria ya que dichas

proteínas presentan diferencias significativas respecto de ortólogos en el humano e intervienen en un proceso esencial para el parásito. Nuestro objetivo principal consistió realizar un rastreo de compuestos naturales con el fin de encontrar principios activos capaces de inhibir dicha interacción, utilizando un ensayo de Transferencia de Energía por Resonancia de Bioluminiscencia (BRET). Para ello, la proteína Sf3b155 fue clonada en fusión al dador de energía (Renilla luciferasa) y p14, en fusión al aceptor (Enhanced Yellow Fluorescent Protein). Se realizó un screening con extractos crudos de distintas especies naturales. Ningún de los extractos evaluados logró interrumpir la interacción, aunque curiosamente, un extracto de *Nardophyllum bryoides* (20 µg/ml) provocó un aumento significativo de la señal de BRET ($P < 0,01$). Nuestra hipótesis de trabajo original se basó en la búsqueda de extractos que interrumpieran una interacción esencial y de características exclusivas en el parásito, como potencial fuente de compuestos antiparasitarios. Sin embargo, la estabilización de una interacción que debería tener una vida media determinada, también podría presentar propiedades tripanocidas. Para comprobar esto, se evaluó la actividad del extracto sobre la proliferación de epimastigotes de la cepa Y de *T. cruzi*, observándose un efecto inhibitorio. En particular, el efecto se observó luego de 48 horas para la concentración 100 µg/ml y de 72 horas para 20 µg/ml ($P < 0,05$). Creemos que un estudio más profundo del mecanismo de acción de este extracto sobre la interacción p14/Sf3b155, podría abrir la posibilidad para el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas.

DyQ7- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *STRONGYLOIDES STERCORALIS* MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL, COMPARACIÓN CON MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO CONVENCIONALES

LB Argüello, CD Alba Soto, P Ruybal, SM González Cappa, SA Repetto.

Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, IMPaM, CONICET-UBA. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. E-mail: lisanarguello@gmail.com

El diagnóstico habitual de *Strongyloides stercoralis* (S.s) se realiza por observación microscópica (OM) de larvas en materia fecal (mf) y cultivo en agar nutritivo (CAN). En las infecciones crónicas, un único examen presenta una sensibilidad de 30% por la fluctuante excreción de larvas. Para mejorar el diagnóstico desarrollamos inicialmente una PCR convencional (cPCR) y luego una PCR en tiempo real (qPCR) para la detección del parásito en muestras de mf. Su sensibilidad analítica (S) es 0,2 y 0,1 larvas/g mf, respectivamente. En este trabajo comparamos la eficiencia de ambas técnicas moleculares con los métodos convencionales para el diagnóstico de S.s. Se realizó un estudio descriptivo, transversal y de validación de pruebas diagnósticas. Se utilizaron 28 muestras de mf de pacientes > 18 años con antecedentes de área endémica para S.s, sin riesgo de infección exógena. Con una muestra de mf fresca se realizó OM, CAN, cPCR y qPCR. La extracción de ADN se realizó combinando lisis mecánica con el QIAamp DNA Stool Mini Kit. Se amplificó la región rARN 18s de S.s mediante cPCR y qPCR. Esta última fue estandarizada mediante diluciones seriadas en factor 2 a partir de 50 larvas/g de mf. Se consideró como test de referencia OM y CAN. El CAN fue positivo en 7/28 muestras y la OM en 3/28. Se detectó S.s en 20/28 muestras por cPCR. Por qPCR se detectaron 21/28 muestras y el rango Ct fue de 28.23-36,24 (mediana 32,54). Sólo una muestra fue negativa por qPCR pero positiva por CAN y cPCR. La S de la qPCR fue 67% y VPN 88% cuando se comparó con OM; S de 86% y VPN de 88% frente a CAN. La S y el VPN de la cPCR fueron del 100% frente a OM y al CAN. La PCR en tiempo real es una herramienta diagnóstica para S.s con alta S y VPN con eficiencia similar a la cPCR. Se ampliará el estudio a un mayor número de muestras.

DyQ8-CO6- TRANSFERENCIA DE ESTRATEGIAS MOLECULARES PARA EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS CONGÉNITO AL SISTEMA SANITARIO PÚBLICO NACIONAL: ENSAYO DE IMPLEMENTACIÓN

Carolina I Cura⁽¹⁾, Juan C Ramírez⁽²⁾, Constanza López Albizu⁽¹⁾, Karenina Scollo⁽¹⁾, Sergio Sosa-Estani⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fátala Chaben", ANLIS "Dr. Carlos G. Malbran". ⁽²⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGEBI-CONICET. E-mail: cura.carolina@gmail.com

La incidencia anual de Chagas congénito en Argentina es de 800-1300 casos, con una población en riesgo de 24000 niños. Con la metodología de diagnóstico actual (método parasitológico antes de los 10 meses y serología a partir de esta edad) 50-70% de los casos pierden la oportunidad de ser diagnosticados y tratados de forma temprana. Las estrategias de PCR son sensibles, específicas y han demostrado un rol predictivo en el diagnóstico de la infección congénita. El Instituto Nacional de Parasitología ha iniciado en 2014 el proceso de transferencia e implementación de un algoritmo de técnicas de PCR en Tiempo Real (qPCR) para el diagnóstico de Chagas congénito al sistema sanitario nacional. El algoritmo propuesto para este estudio, realizado en paralelo a la metodología estándar, incluye una ronda de tamizaje y una confirmatoria, y emplea dos técnicas de qPCR, una dirigida a la secuencia satélite (SatDNA) y otra al ADN de kinetoplasto (kDNA) de *Trypanosoma cruzi*. De los 219 neonatos hijos de madres infectadas e incorporados al estudio desde el 01/07/2014, entre 500 a ser evaluados, 57 completaron el seguimiento por los métodos de referencia, confirmándose la infección en 7 de ellos (12,3%). Ambos métodos de qPCR tuvieron una sensibilidad (S) del 100% en el tamizaje, mientras que la especificidad (E) fue de 94% y 98% para kDNA y SatDNA, respectivamente. La ronda confirmatoria elevó la S y E del algoritmo a un 100%. En 6 de los casos positivos, el nuevo algoritmo detectó la infección a la edad de 1,7±1,0 meses, 5 fueron positivos por

micrométodo (3,6±4,1 meses), y 1 presentó serología reactiva a los 10 meses. El 7mo caso fue encontrado PCR positivo a los 9 meses (1er control) y confirmado por serología a los 12 meses. Los resultados preliminares del ensayo de implementación muestran la utilidad de los métodos de qPCR y el algoritmo propuesto para el diagnóstico temprano de la infección congénita y respaldan su transferencia al sistema sanitario público nacional.

DyQ9- DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UNA PCR ANIDADA (nPCR) DE ALTA SENSIBILIDAD PARA LA DETECCIÓN DE BABESIA BOVIS Y BABESIA BIGEMINA

Anabela Mira⁽¹⁾, Dora Romero-Salas⁽²⁾, Juan Mosqueda⁽³⁾, Monica Florin-Christensen⁽¹⁾, Leonhard Schnittger⁽²⁾.

⁽¹⁾Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA-Castelar. ⁽²⁾Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Veracruz, México. ⁽³⁾Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Juriquilla, México. E-mail: mira.anabela@inta.gob.ar

En América, la babesiosis bovina es causada por *Babesia bovis* y *B. bigemina* y es considerada una de las enfermedades de mayor importancia del ganado bovino entre las transmitidas por artrópodos a nivel mundial. Los animales en regiones tropicales y subtropicales endémicas para las garrapatas vectores pueden desarrollar infecciones crónicas con baja carga parasitaria resultando necesario contar con métodos de detección sensibles. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar y evaluar una nPCR que permita la detección directa de ADN del parásito a partir de muestras de sangre de bovinos y búfalos de agua. Los primers para la nPCR fueron diseñados tomando como base las secuencias del gen citocromo b de *B. bovis* y *B. bigemina*. La técnica se puso a punto con muestras de ADN obtenidas de sangre de bovinos experimentalmente infectados con estos parásitos. Se corroboró mediante electroforesis en geles de 1,8% de agarosa la obtención de productos de amplificación del tamaño esperado (195 pb y 250 pb, para *B. bovis* y *B. bigemina* respectivamente). Se verificó la especificidad de los primers utilizando como control de reactividad cruzada muestras de ADN genómico de *B. bovis*, *B. bigemina* o *Anaplasma marginale*. La sensibilidad se testeó en cantidades decrecientes de ADN genómico de cada parásito, pudiendo detectarse en ambos casos hasta 0,1 fg de ADN, lo cual corresponde a una sensibilidad 1000 veces superior con respecto a un ensayo de nPCR ampliamente utilizado y considerado como estado de arte en la detección y estudios epidemiológicos de estos patógenos. Nuestro ensayo fue aplicado a muestras de campo de bovinos y búfalos de agua asintomáticos permitiendo estudiar el efecto de factores poblacionales e individuales contrastantes entre las diferentes poblaciones analizadas sobre la infección con *B. bovis* y *B. bigemina*. Financiado por INTA CORRI-1243106

DyQ10- DESARROLLO DE UNA PCR SEMIANIDADA DÚPLEX PARA LA DETECCIÓN DE ADN DE SARCOCYSTIS AUCHENIAE EN MUESTRAS DE SANGRE DE LLAMA

Cecilia Decker Franco⁽¹⁾, Leonhard Schnittger⁽²⁾, Mónica Florin-Christensen⁽²⁾.

⁽¹⁾INTA CASTELAR. ⁽²⁾Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA-Castelar. E-mail: decker.cecilia@inta.gob.ar

La sarcocistiosis de camélidos sudamericanos (CS) domésticos es causada por el protozoo *Sarcocystis aucheniae*, que da lugar a la formación de quistes macroscópicos (1-5 mm) en los músculos de estos animales. El consumo de carne infectada, cruda o insuficientemente cocida, puede producir en el hombre, un cuadro de gastroenteritis que cursa con náuseas, diarreas y cólicos. En consecuencia, la sarcocistiosis tiene un impacto negativo en la economía de los productores de CS, dado que la presencia de quistes puede conducir a la desvaloración y/o decomiso de la carne. Para ayudar al control de esta parasitosis, es importante contar con métodos de detección de las infecciones previamente a la faena. Por ello, el objetivo de este trabajo fue el desarrollo de una PCR semianidada dúplex, para detectar simultáneamente ADN del parásito y del hospedador en muestras de sangre. Como secuencias blanco, se utilizaron secuencias específicas del gen 18S ARNr de *S. aucheniae* y el gen 16S ARNr mitocondrial de llama. El ensayo se puso a punto con muestras de ADN extraídas de quistes del parásito y músculo de llama, para luego ser aplicado a alícuotas de sangre de llama a las que se agregaron distintas cantidades conocidas de bradizoitos de *S. aucheniae*. En el segundo ciclo de la PCR, se obtuvieron fragmentos de ADN correspondiente al tamaño esperado para el parásito y hospedador, 583 y 257 pb, respectivamente. Éste método fue altamente sensible, alcanzándose un límite inferior de detección de 0,76 parásitos/ml de sangre. Luego, fue aplicado con éxito a muestras de sangre de llamas de Argentina, confirmando así la posibilidad de detectar infecciones por *S. aucheniae* en la sangre de CS. Este método permitirá un relevamiento de infecciones por este parásito en CS de Argentina y países vecinos, criados bajo diferentes condiciones sanitarias, para poder conocer la situación epidemiológica de la sarcocistiosis de CS e identificar factores de riesgo. Financiado por INTA SALJU-1232204.

DyQ11-CO8- DESARROLLO DE UN NUEVO ANTÍGENO MULTIEPITOPE PARA OPTIMIZAR EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS

Luz Peverengo⁽¹⁾, Valeria Garcia⁽²⁾, Bruno Belluzo⁽¹⁾, Andrea Raccá⁽¹⁾, Luz Rodeles⁽¹⁾, Miguel Vicco⁽¹⁾, Luis Gugliotta⁽²⁾, Claudia Lagier⁽³⁾, Verónica Gonzalez⁽²⁾, Iván Marcipar⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. ⁽²⁾Grupo de polímeros y reactores de polimerización (INTEC-CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina. ⁽³⁾Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. E-mail: luzpeverengo@gmail.com

En trabajos previos hemos evaluado diferentes antígenos recombinantes y combinaciones multiepitope, destinadas al diagnóstico de Chagas, utilizando diferentes plataformas de diagnóstico. Hasta el momento, habíamos logrado el mejor desempeño diagnóstico con una proteína constituida por los antígenos FRA y SAPA que denominamos CP1. Dado que la sensibilidad de dicho antígeno es insuficiente para el diagnóstico y no se complementa con ninguna de nuestras proteínas y/o las construcciones recombinantes previas, hemos diseñado una nueva proteína destinada a complementar el desempeño de CP1. Diseñamos un gen sintético constituido por los antígenos TSSAII-MAP-TcD y lo expresamos en el sistema pET28a/ *E. coli* BL21-DE3. Luego, purificamos la proteína con NTA-Ni. Las capacidades diagnósticas de este antígeno (CP3) y del previamente descrito (CP1) se compararon para la determinación de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi* en sueros humanos mediante ELISA. A fines de hallar una diferencia mínima del 10% de las áreas debajo de la curva (AUC) entre ambos antígenos (Error alfa=0,05; Error beta=0,20, relación 1:1) el número de muestras requeridas por grupo fue de 15. Se utilizaron 15 sueros positivos y 26 negativos confirmados por ELISA y HAI comerciales. El AUC para CP1 fue de 0.80 (IC95% 0,65-0,90, p=0,001), mientras que la de CP3 fue de 0,99 (IC95% 0,91-0,99, p<0,001). Mediante la comparación entre ambas AUC se observó una diferencia de 0,19 a favor de CP3 (IC95% 0,015-0,38; p=0,03), indicando optimización diagnóstica de CP3 con respecto a CP1. Esta diferencia se reflejó en un mayor cociente de medias de DO de positivos/negativos de CP3 en relación a CP1 (10,4 vs 6,5). Un segundo análisis consistió en evaluar la capacidad diagnóstica de CP1 y CP3 con 5 muestras discordantes por ELISA y HAI comerciales y confirmadas IFI. Los resultados para CP1 y CP3 concordaron con la clasificación de IFI. En una siguiente etapa nos proponemos evaluar el desempeño de los antígenos combinados.

DyQ12- RESPUESTA DIFERENCIAL DE INHIBIDORES DEL TRANSPORTE DE PROLINA SOBRE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Lucía Fargnoli⁽¹⁾, María J Barisón⁽²⁾, Ariel M Silber⁽²⁾, Guillermo R Labadie⁽¹⁾.

⁽¹⁾IQUIR-CONICET, Universidad Nacional de Rosario, Argentina. ⁽²⁾Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Brasil. E-mail: fargnoli@iquir-conicet.gov.ar

La quimioterapia de la enfermedad de Chagas es obsoleta e insuficiente. El complejo ciclo de vida que presenta el agente etiológico que la produce ha llevado a buscar nuevos blancos moleculares que permitan desarrollar nuevos fármacos selectivos y específicos para la fase crónica de la enfermedad. Se ha observado la dependencia de L-Prolina como fuente de carbono en este parásito, lo que ha permitido especular que la inhibición de su internalización permitiría desarrollar nuevos agentes quimioterapéuticos que permitan tratar la enfermedad. En trabajos previos de nuestro grupo se han diseñado, sintetizado y estudiado nuevos análogos sustituidos de L-Prolina que presentaron actividad contra epimastigotes de *T. cruzi* y promastigotes de *L. donovani*. Estudios de relación estructura-actividad permitieron determinar que los análogos con sustituyentes alifáticos de cadena larga sobre el núcleo 1,2,3-triazólico presentaban los mejores perfiles de actividad. En el presente trabajo, tomando los 3 derivados más activos en epimastigotes se ensayó su actividad frente a las 5 DTUs (I, II, III, IV; y V) restantes, con el objetivo de determinar si existía un comportamiento diferencial de los compuestos frente a ellas. Los resultados arrojan valores de IC50 menores a los obtenidos con la cepa CL14 (DTU VI). Por otro lado, se estudió el mecanismo de muerte celular (vía apoptótica o necrosis) mediante citometría de flujo, utilizando una doble marcación: Anexina V para apoptosis y Ioduro de propidio para marcar las membranas rotas en necrosis. De esta manera, determinamos si los parásitos en estadio de epimastigotes siguen la vía apoptótica o de necrosis cuando son tratados con los análogos al IC50 y al IC80 a las 24h y 72 h. Los resultados encontrados indican que uno de los análogos induce muerte por necrosis. Adicionalmente, se observaron los cambios morfológicos en epimastigotes de *T. cruzi* asociados con el tratamientos con los 3 compuestos, resultando en parásitos con forma más redondeada especialmente cuando son tratados a su IC80. Durante la presentación de este trabajo se discutirá cómo pequeñas variaciones moleculares producen una respuesta diferencial en los parásitos, llevando incluso a cursar por distintos mecanismos de muerte.

DyQ13-CO4- ESTUDIO *IN VIVO* DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA DE NANOCRISTALES DE ALBENDAZOLE SOBRE EL ESTADIO LARVAL DE *ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS*

Patricia Pense⁽¹⁾, Alejandro Paredes⁽²⁾, Clara M Albani⁽¹⁾, Daniel Allemandi⁽²⁾, Sergio Sanchez Bruni⁽³⁾, Santiago D Palma⁽²⁾, María C Elissondo⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. CONICET. ⁽²⁾Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica, UNITEFA-CONICET, Ciudad Universitaria, 5000 HUA-Córdoba, Argentina. ⁽³⁾Laboratorio de Farmacología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA-Tandil, Argentina. E-mail: patricia_pense@hotmail.com

La equinococosis alveolar (EA) humana es una enfermedad parasitaria causada por el estadio larval del cestode *Echinococcus multilocularis*. El tratamiento de la EA consiste en la cirugía y/o la quimioterapia con benzimidazoles-metilcarbamatos, principalmente albendazole (ABZ). Este fármaco presenta limitaciones en su eficacia, debido a su pobre y errática biodisponibilidad. Los nanocristales (NC) son partículas compuestas en un 100% del principio activo con un rango de tamaño de 400-600nm. La gran superficie de contacto de los NC, aumenta su velocidad de disolución y en consecuencia incrementa la biodisponibilidad oral del fármaco. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de NC de ABZ (NC-ABZ) en ratones experimentalmente infectados con *E. multilocularis*. No se observó diferencia significativa entre los grupos control ($P>0.05$; Control agua destilada= 8.98 ± 4.61 g; NC vacías= 10.13 ± 2.98 g). El tratamiento durante 30 días con ABZ suspensión (5 mg/kg/día) redujo el peso promedio de los quistes, sin embargo no se observaron diferencias significativas ($P>0.05$; 4.9 ± 2.2 g) respecto a los grupos control. Por el contrario, el peso promedio de los quistes del grupo NC-ABZ (5 mg/kg/día) fue significativamente menor ($P<0.001$, 2.17 ± 1.24 g) que los observados en los grupos control. El test de exclusión con azul de metileno determinó la vitalidad de los protoescolices aislados de cada grupo experimental. Si bien ambas formulaciones mostraron efecto protoescolicida, la vitalidad de los protoescolices extraídos del grupo NC-ABZ fue significativamente menor ($P<0.001$) que la detectada en el grupo ABZ suspensión. Estos resultados coincidieron con el daño detectado a nivel ultraestructural. En conclusión, ABZ formulado como NC mejoró la eficacia *in vivo* de la droga en el modelo murino de EA. El aumento en la velocidad de disolución de la droga podría incrementar su llegada en el sitio de localización del parásito y en consecuencia su efecto antihelmíntico.

DyQ14- LAMP (LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION) PARA LA DETECCIÓN COLORIMÉTRICA DE ADN DE TRYPANOSOMA RANGELI UTILIZANDO SYBR GREEN®

Rocío Rivero, Elsa B Velázquez, Mónica I Esteva, Ana María De Rissio, Margarita Bisio, Andrés M Ruiz.

Instituto Nacional de Parasitología. E-mail: rocior_04@yahoo.com.ar

El protozoario *T. rangeli* comparte con *Trypanosoma cruzi* los mismos vectores y reservorios y en algunas ocasiones la distribución geográfica. Por su similitud antigénica los ensayos de inmunodiagnóstico presentan reacción cruzada. Por tal motivo sigue siendo un problema encontrar técnicas de diagnóstico que diferencien ambos microorganismos. La técnica de LAMP se basa en la amplificación de ADN utilizando equipamiento de laboratorio sencillo, una ADN polimerasa con actividad de desplazamiento y un sistema de cuatro oligonucleótidos. La amplificación se obtiene en una hora en un bloque seco y es posible la lectura directa del resultado por la adhesión de sustancias que cambian de color cuando se integran al producto, sin necesidad de recurrir al gel de agarosa. El objetivo de este trabajo fue optimizar y evaluar la performance de un ensayo LAMP para la detección colorimétrica de *T. rangeli*. Se utilizaron los primers reportados por Thekisoe y col. 2010, modificando ligeramente las condiciones. Se ensayó adicionar 1µl del intercalante (SYBR Green®, Invitrogen (S7563) al finalizar la reacción. Los productos de reacción se corrieron en gel de agarosa 2,5%. Se analizaron además los parámetros de sensibilidad y especificidad. Se obtuvo un límite de detección de 100 fg, 10 veces superior al publicado previamente. Con la adición del intercalante (1:10), las muestras positivas para *T. rangeli* viraron del color naranja a verde fluorescente según lo esperado para muestras positivas mientras que los controles negativos (*T. cruzi* y *Leishmania spp*) permanecieron de color naranja. Se observó una perfecta correlación entre la detección colorimétrica y los geles de agarosa. La adición de SYBR Green® permite la lectura del resultado a simple vista lo que hace que el ensayo pueda ser utilizado en laboratorios con recursos limitados. Los resultados sugieren que LAMP puede surgir como una técnica rápida y sensible de diagnóstico diferencial de infecciones por *T. rangeli* o *T. cruzi*.

DyQ15-CO8- PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EXTERNO PARA EL MONITOREO POR PCR EN TIEMPO REAL EN ENSAYOS CLINICOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Juan C Ramirez⁽¹⁾, Rudy Parrado⁽²⁾, Elena Sulleiro⁽³⁾, Sandro Villarroel⁽²⁾, Anabel de la Barra⁽²⁾, Marcelo Rodríguez⁽⁴⁾, Lucia Irazu⁽⁴⁾, María de los A Curto⁽¹⁾, Lineth García⁽²⁾, Israel Molina⁽³⁾, Isabela Ribeiro⁽⁵⁾, Alejandro G Schijman⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

⁽²⁾Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIBISMED) - Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia. ⁽³⁾Vall d'Hebron Teaching Hospital - Special Program for Infectious Diseases, Barcelona, España. ⁽⁴⁾Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina. ⁽⁵⁾Drugs for Neglected Diseases initiative (DNDi), Ginebra, Suiza. E-mail: juankrg@yahoo.es

El monitoreo por PCR en Tiempo Real (qPCR) es un marcador de falla terapéutica altamente recomendado en los ensayos clínicos de la enfermedad de Chagas, pero hasta la fecha ningún programa de control de calidad externo (CCE) ha evaluado el desempeño de los ensayos de qPCR utilizados en los diferentes ensayos clínicos. Se diseñó un programa de CCE para evaluar el rendimiento de las qPCRs utilizadas en los ensayos clínicos E1224 y Chagasazol realizados en Bolivia y España, respectivamente. Cuatro paneles con muestras de sangre negativa en buffer Guanidina HCl 6M EDTA 0.2M pH 8, contaminadas con 0, 1, 10 y 100 equivalentes parasitarios (eq. par.)/mL de las cepas K98 (TcIa), Sylvio X10 (TcId), LL014-1-R1 (TcV) y CL-Brener (TcVI), fueron preparados por el LaBMECh (Lab Ref) del INGEBI, Buenos Aires, Argentina. Los paneles

se analizaron a ciegas a los 0, 3, 6 y 9 meses en los laboratorios de Bolivia (LabB), España (LabC) y el Lab Ref. La concordancia (acuerdo intra-laboratorio) y concordancia (acuerdo inter-laboratorio) global de los resultados a nivel cualitativo fueron de 49.7, 84.2 y 100%, y 50.1, 82.7 y 100%, para 1, 10 y 100 eq. par./mL, respectivamente, y del 100% para los controles negativos. La comparación de los Cts reveló la existencia de diferencias significativas entre las cepas utilizadas, con menores Cts para las cepas K98 (TcIa) y CL-Brener (TcVI). No se encontraron diferencias significativas entre los laboratorios para cada panel, excepto para el panel 2 entre el Lab Ref y el LabC. Además, no hubo diferencias significativas entre los paneles para cada laboratorio, lo cual evidencia una adecuada conservación de las muestras durante el estudio. El programa de CCE para el monitoreo por qPCR en ensayos clínicos de la enfermedad de Chagas resultó ser una estrategia factible y de elevada utilidad, por lo que se recomienda su aplicación en los laboratorios de diagnóstico molecular del Sistema de Salud.

DyQ16- ACTIVIDAD DE DERIVADOS DE QUINOLONAS Y QUINOLINAS SOBRE *TOXOPLASMA GONDII*

Gisela C Muscia, María B Palma, Graciela Y Buldain, Silvia E Asís, Fernanda M Frank.

IMPAM (UBA-CONICET), Departamento de Química Orgánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. E-mail: celgim@yahoo.com.ar

Toxoplasma gondii, es un patógeno oportunista con prevalencia a nivel mundial en poblaciones humanas y animales. La infección humana es asintomática excepto cuando la primoinfección ocurre durante la gestación, o en inmunodeprimidos donde puede ocurrir reactivación de la infección latente dando lugar a una toxoplasmosis cerebral. El tratamiento emplea sulfadiazina y piremitamina, su empleo prolongado produce efectos adversos, que llevan a la suspensión del tratamiento en el 40% de los pacientes. Por otro lado, los fármacos actuales ayudan a limitar la multiplicación parasitaria en el estadio de replicación rápida (taquizoíto), sin ejercer efecto cuando los parásitos se encuentran enquistados en los tejidos. Sintetizamos derivados de quinolonas y quinolinas, los cuales fueron evaluados por la Organización Mundial de la Salud frente a *Plasmodium falciparum*. Dos quinolonas demostraron actividad frente a cepas resistentes, mientras que la quinolina también fue activa frente a este parásito. Siendo que *P. falciparum* y *T. gondii* son parásitos pertenecientes a la clase apicomplexa, nos proponemos determinar la actividad de estas tres drogas frente *T. gondii*. Se determinó la citotoxicidad frente a la línea celular THP-1, demostrando que los mismos no son citotóxicos. Luego determinamos la capacidad de las mismas de controlar la parasitemia. Ratones C3H fueron infectados por vía oral con quistes tisulares de la cepa Me49 de *T. gondii* y al mes evaluamos la carga parasitaria en tejido cerebral, realizando el recuento de quistes. Las tres drogas fueron evaluadas a concentraciones de 10 y 20 mg/kg/día y se asociaron entre ellas y con las drogas de referencias para determinar su posible sinergismo. Los resultados obtenidos demuestran que estos derivados reducen significativamente el número de quistes por cerebro con respecto al grupo control (PBS) y que la asociación de una de las quinolonas y de la quinolina con sulfadiazina es más efectiva que la combinación de sulfadiazina y pirimetamina empleada.

DyQ17- ENSAYOS PRECLÍNICOS: EVALUACIÓN DE EFICACIA DE TRATAMIENTOS CON BENZNIDAZOL Y ALOPURINOL, EN DIFERENTES CEPAS DE *T. CRUZI* Y MODELOS DE RATON

Marcela Rial, María Luján Scalise, Jacqueline Búa, Mónica I Esteva, Nilda Prado, Adelina Riarte, Laura E Fichera.

INP Dr. M. Fátala Chaben ANLIS/Malbrán. E-mail: marcelarial2@hotmail.com

En trabajos previos preclínicos con drogas tripanocidas en ratón, estudiamos el efecto del tratamiento combinado con bajas dosis de benznidazol y alopurinol sobre la miocarditis crónica generada por los parásitos Tc Sylvio-X10/4 y Tc Nicaragua (TcN) en ratones C3H/HeN y C57/BJ6. Los diferentes modelos se evaluaron con serología, PCR cuantitativa, histopatología y electrocardiografía. En este estudio analizamos la respuesta al tratamiento en cada uno de los métodos utilizados que permitan evaluar mejor el efecto tripanocida sobre la reducción de la patología cardíaca. Los métodos utilizados en tratamientos de C3H/HeN infectados con baja carga parasitaria (10 TcN), fueron eficientes para observar efectos de las drogas, excepto la electrocardiografía dado que la patología generada fue leve y no hubo alteraciones que modificaran la actividad eléctrica. En los ratones C57/BJ6 crónicos infectados con 3000 parásitos de TcN, la electrocardiografía permitió evaluar trastornos de conducción en el corazón, como el aumento del tiempo de conducción del nodo A-V y la caída de la frecuencia cardíaca respecto de los ratones sanos. Dichos cambios revirtieron con los tratamientos. En ratones C3H/HeN crónicos infectados por 1x10⁶ Tc Sylvio-X10/4 y tratados, la inflamación asociada a la infección disminuyó un 80% y la frecuencia cardíaca se normalizó. La cuantificación de la parasitemia fue fundamental cuando se evaluó la infección crónica por TcN en C57/BJ6 con una disminución de la parasitemia de 98 % y de 95 % en C3H/HeN, de igual modo que con la infección provocada por Tc Sylvio. En el marco de las sugerencias de estudios preclínicos para evaluar drogas tripanocidas: en dos cepas de ratón y dos de Tc con igual UDT, se observó que es fundamental la elección del método de evaluación para cada modelo experimental.

DyQ18-CO6- DIAGNÓSTICO DE CHAGAS CONGÉNITO: ¿PODEMOS MEJORAR EL ALGORITMO DE TRABAJO?

Romina Volcovich, Nicolás González, Samanta Moroni, Guillermo Moscatelli, Griselda Ballering, Margarita Bisio, Indira D Amico, Facundo García Bournissen, Jaime Altcheh.

Servicio de Parasitología y Chagas – Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires. E-mail: rovolco@gmail.com

La Enfermedad de Chagas (ECh) es una zoonosis causada por *Trypanosoma cruzi* (Tc) cuyas principales vías de transmisión son la vectorial y la transplacentaria. El diagnóstico de infección congénita en el recién nacido se realiza mediante estudio parasitológico directo (EP), en tanto la serología permite realizarlo en niños mayores con EP negativo previo, una vez eliminados los anticuerpos (Acs) maternos. Respecto a la edad mínima para solicitar el estudio serológico (ES), la Sociedad Argentina Pediatría recomienda 8m, y el Programa Nacional de Chagas 10m. Con el objetivo de evaluar la cinética de Acs anti Tc, se realizó un estudio observacional de seguimiento de hijos de madres con ECh entre Junio 2012 y Junio 2015. Se definió infección congénita por presencia de Tc en EP (microhematocrito o microtubo) o Acs positivos por dos técnicas (Chagatest HAI y Chagatest ELISA lisado) a los 9m de vida. Los pacientes infectados recibieron benznidazol 5-8 mg/kg/d por 60d. A los pacientes con EP negativo se les realizó ES trimestral hasta los 9m. Se analizaron curvas de Acs por el método de Kaplan-Meier, comparando las obtenidas por HAI y ELISA mediante test de Log-Rank por SPSS Statistics. Se incorporaron al estudio 116 niños. Doce presentaron ECh Congénita (11 EP+ y 1 ES+). A la fecha 76% de los pacientes con EP negativo completaron el protocolo, descartándose la infección en 68 niños cuya Me de negativización de Acs fue 7,5m (Iq25:6,1m - Iq75:9,1m). No se hallaron diferencias al comparar la cinética de Acs por HAI y ELISA (Log Rank p=0,216). El EP presentó una sensibilidad diagnóstica elevada (92%). Cincuenta y uno de los 68 niños no infectados (75%) negativizaron Acs maternos entre los 6 y los 9m de vida. Esto no pudo ser constatado en el 25% restante por retraso en la concurrencia al último control. No se observaron resultados positivos de serología luego de los 7m, por lo que podría sugerirse realización de un primer ES más precoz, evitando eventual pérdida de seguimiento.

DyQ19-CO2- TRATAMIENTO INTERMITENTE DE BENZNIDAZOL COMBINADO CON ALOPURINOL EN LA INFECCIÓN CRÓNICA MURINA POR T. CRUZI NICARAGUA (TcN)

Lujan Scalise, Marcela Rial, Mónica I Esteva, Jacqueline Búa, Nilda Prado, Adelina Riarte, Laura E. Fichera.

INP Dr. M. Fatala Chaben ANLIS/Malbrán. E-mail: scaliselujan@yahoo.com.ar

En la infección crónica de ratones C57/BJ6 por Tc Nicaragua (Grosso y col., 2010) se estudió la respuesta al tratamiento de benznidazol (BZ) y alopurinol (ALO) en un esquema de tratamiento intermitente (IT) (Bustamante y col., 2014). Las dosis se suministraron cada 5 días, y se compararon los resultados con el esquema de dosis diarias. Cuatro grupos de 10 ratones hembras crónicos, infectados con 3000 TcN, se trataron en forma intermitente con 13 dosis orales, 2 con BZ75 y 2 con BZ100 mg/kg, cada 5 días. A un grupo de cada dosis de BZ, se les administraron a continuación, 30 dosis orales de ALO64 mg/Kg/día. A los 7 meses post infección, se estudiaron las alteraciones electrocardiográficas y luego del sacrificio la serología por ELISA, la parasitemia por qPCR, y los grados de inflamación y de fibrosis por histopatología. En los ratones crónicos el estudio electrocardiográfico mostró una disminución significativa de la frecuencia cardiaca y un aumento del tiempo de conducción del nódulo A-V. En los ratones tratados estas alteraciones se revirtieron en forma significativa. Los títulos de IgG disminuyeron en un 80 a 83% con los tratamientos, y a un 50% cuando se agregó ALO a BZ75. La inflamación asociada a la infección de los ratones tratados disminuyó significativamente entre un 70 y un 90%, excepto con BZ75+ALO. La fibrosis disminuyó significativamente un 60% con todos los tratamientos, menos con BZ75. La parasitemia disminuyó de 8.5 a 1.6 y 0.9 Eq/ml en los ratones tratados con BZ100 y BZ100+ALO. El tratamiento intermitente provocó disminución de las alteraciones eléctricas y patológicas del miocardio, de la parasitemia en sangre, y de los títulos de IgG en el suero. No se observaron diferencias con los resultados del tratamiento de dosis diarias. Estas observaciones sugieren que las dosis de BZ, suministradas en forma intermitente, podrían considerarse para un esquema de tratamiento con menor acumulación de droga e igualmente efectivo sobre la patología cardíaca.

DyQ20- APLICACIÓN DE LA PCR, EN MUESTRAS RECOLECTADAS EN PAPEL DE FILTRO, PARA LA DETECCIÓN DE TRYPANOSOMA CRUZI

Cristina G Maidana⁽¹⁾, Elsa Velázquez^(1,2), Nora Malagrino⁽¹⁾, Rocío Rivero^(1,2), Andrés M Ruiz^(1,2).

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben" (INP) ANLIS-Malbrán. Buenos Aires, Argentina. ⁽²⁾CONICET, Buenos Aires, Argentina. Email: cgmaidana_1999@yahoo.com

El diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas se ha constituido en una alternativa viable, especialmente en la transmisión congénita y la infección aguda. Recientemente nuestro grupo demostró que la PCR es capaz detectar la infección anticipándose a la serología y la observación microscópica en neonatos infectados. El objetivo de este trabajo fue establecer las condiciones óptimas de amplificación del ADN de *T. cruzi* utilizando muestras de sangre recolectadas en papel de filtro (PCR-P), analizar la sensibilidad de la PCR-P respecto de la PCR convencional (PCRC) y determinar la concordancia entre Micrométodo (Mm) y serología. Se emplearon las FTA Cards de Whatman® que permiten la aplicación de muestras de sangre extraídas de diferentes maneras. Las ventajas de este método, de purificación de ADN, son el

pequeño volumen de sangre a utilizar, la practicidad y el tiempo total en que se realiza la reacción. Se estudiaron 126 pacientes: 122 niños y 4 adultos. Se les realizó serología convencional HAI, IFI, ELISA; Mm, PCRc (Velázquez et al., 2014) y PCR-P. Resultados: 1) PCRc vs PCR-P: Sobre 121 muestras totales se observó que 107 fueron negativas por ambos métodos; en tanto que, de (14/121) positivas PCR-P detectó una muestra más que la PCRc (13/121). 2). PCR-P vs Mm: Se procesaron 119 muestras (96/119) fueron negativas para ambos métodos y sobre un total de 23 muestras positivas, PCR-P fue capaz de detectar el 100 % respecto de 7/23 realizadas por el Mm. 3). PCR-P vs Serología: De 39 muestras 30 resultaron negativas por ambos métodos, mientras que de un total de 9 muestras positivas, serología detectó 7 y PCR-P la totalidad de las mismas. Los resultados aquí presentados demuestran la buena performance alcanzada por PCR-P además de otras ventajas: *Pequeño volumen de sangre (50-75 ul); *Fácil aplicación, *Procesamiento en el día; *Tiempo total de purificación; *Almacenamiento a Tº ambiente; *Envío por correo de las muestras; *Especial para estudios en campo.

DyQ21- FARNESIL DIFOSFATO SINTETASA Y ESCUALENO SINTETASA COMO BLANCOS MOLECULARES PARA EL DISEÑO DE AGENTES ANTIPARASITARIOS

Juan B Rodriguez, María N Chao, Carolina Exeni Matiuzzi, Mariana Ferrer Casal, Tamila Galaka, Sergio H Szajnman.

Departamento de Química Orgánica, FCEyN, UBA. E-mail: jbr@qo.fcen.uba.ar

El camino biosintético de isoprenoides está considerado como muy útil para la identificación de nuevos blancos moleculares contra trypanosomátidos y parásitos Apicomplexa. Por otro lado, el tratamiento de infecciones con *Trypanosoma cruzi* se basa en dos drogas, nifurtimox ó benznidazol, los cuales se descubrieron empíricamente, no están aprobados por la FDA de los Estados Unidos y están asociados a largos tratamientos con severas contraindicaciones. La quimioterapia para infecciones con *Toxoplasma gondii* no es satisfactoria, particularmente, no es bien tolerado por pacientes con SIDA. Entonces, existe una necesidad de desarrollar drogas seguras basadas en el conocimiento de la bioquímica y fisiología de estos microorganismos. Nuestra hipótesis es que existen enzimas en la biosíntesis de isoprenoides que constituyen blancos moleculares relevantes para el tratamiento de estas enfermedades parasitarias. Para evaluar esta hipótesis, nuestros objetivos son (a) investigar el efecto de bisfosfonatos contra la actividad enzimática de farnesil difosfato sintetasa (FPPS) e *in vitro* contra células de *T. cruzi* y *T. gondii*; (b) investigar la acción de análogos de WC-9 (tiocianato de 4-fenoxifenoxietilo), los cuales son potentes inhibidores de la proliferación de *T. cruzi* y *T. gondii*, contra escualeno sintetasa de *T. cruzi* (TcSQS). WC-9 posee la capacidad de bloquear eficientemente la biosíntesis *de novo* de ergosterol a nivel de SQS como un inhibidor no-competitivo de la actividad enzimática de TcSQS tanto glicosomal como mitocondrial en el rango nanomolar. Por otro lado, *T. gondii* no biosintetiza colesterol y lo toma del huésped sugiriendo que los inhibidores de SQS de mamíferos podrían eventualmente controlar el crecimiento de *T. gondii*. Hemos encontrado que bisfosfonatos lineales conteniendo un átomo de azufre en la posición C-3, en distintos estados de oxidación, eran potentes y selectivos inhibidores de la proliferación de *T. gondii* en el orden nanomolar. Por otro lado, las modificaciones en el esqueleto de WC-9 para dar tiocianatos de 3-ariloxifenoxietilo resultaron potentes inhibidores del crecimiento tanto de *T. cruzi* como de *T. gondii* consolidando nuestra relación estructura/actividad de cientos de compuestos sintetizados en nuestro laboratorio. Los compuestos híbridos bisfosfonatos-WC-9s exhibieron una potente acción antiparasitaria contra *T. gondii* y *T. cruzi*.

DyQ22- FARMACOCINETICA Y RESPUESTA PARASITOLÓGICA EN PACIENTES ADULTOS CON ENFERMEDAD DE CHAGAS TRATADOS CON BENZNIDAZOL (ABARAX®)

Marisa Fernandez⁽¹⁾, María E Marson⁽²⁾, Juan C Ramirez⁽³⁾, Guido E Mastrantonio⁽²⁾, Alejandro G Schijman⁽³⁾, Jaime Altcheh⁽⁴⁾, Adelina R Riarte⁽¹⁾, Facundo García-Bournissen⁽⁴⁾.

⁽¹⁾Departamento de Clínica, Patología y Tratamiento. INP M Fatala Chaben. ⁽²⁾Área de Toxicología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. ⁽³⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas (LaBMECh), Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI-CONICET). ⁽⁴⁾Servicio de Parasitología-Chagas, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, CABA. E-mail: marisa.fernandez@gmail.com

Este es un reporte de farmacocinética y respuesta parasitológica en pacientes adultos tratados con la nueva formulación de benznidazol (BNZ), desarrollada por laboratorio ELEA y recientemente aprobada, denominada Abarax® Se realizó un estudio descriptivo de 6 pacientes adultos con al menos 2 serologías reactivas para *T. cruzi* a quienes se les indicó tratamiento, según las guías nacionales, con BNZ 5 mg/kg/día por 60 días. Durante el mismo se tomaron muestras de sangre para la medición de BNZ intratratamiento; y para PCR en tiempo real (qPCR), dirigidas al ADN Satélite (SatDNA) y Kinetoplastido (kDNA) de *T. cruzi*; previo al tratamiento, al fin del mismo y a 6 meses de seguimiento Dos pacientes no cumplieron con las indicaciones médicas y tomaron siempre la mitad de la dosis diaria prescrita. De los 4 pacientes que adherieron a la dosis indicada, dos tuvieron que suspender el tratamiento a los 23 y 32 días por eventos adversos (EAs) graves, por lo que sólo 2 pacientes pudieron completar el esquema según el protocolo previsto. De los 6 pacientes, 4 presentaron EAs, incluyendo los que tomaron mitad de dosis. Estos EAs no mostraron correlación evidente con la concentración plasmática de BNZ. La

concentración de BNZ en plasma fue la esperada para todos, excepto para un paciente que tomó la mitad de la dosis indicada y presentó concentraciones plasmáticas mayores a las que se habrían esperado para la dosis habitual. En relación a la respuesta parasitaria, tres pacientes tuvieron qPCRs detectables para SatDNA y kDNA pretratamiento, mientras que la totalidad de las muestras al final del tratamiento y a 6 meses de seguimiento fueron no detectables para ambas qPCRs. Esta serie, con un número limitado de pacientes, sugiere que la respuesta parasitológica al BNZ continúa siendo elevada con la mitad de la dosis convencional y, podría indicar que tratamientos con dosis menores a la recomendada por las guías vigentes continuarían siendo efectivos.

DyQ23- DIAGNÓSTICO DE LA REACTIVACIÓN DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EN PERSONAS CON VIH/SIDA

Marisa L Fernandez⁽¹⁾, Ezequiel Córdova⁽²⁾, Luis M Buscemi⁽³⁾, Nicolás Lista⁽⁴⁾, Marcelo A Corti⁽⁵⁾.

⁽¹⁾Departamento de Clínica, Patología y Tratamiento. INP M Fatala Chaben. ⁽²⁾Unidad de Infectología. Hospital Cosme Argerich, GCBA. ⁽³⁾Unidad de Bacteriología. Hospital de Infecciosas FJ Muñiz, GCBA. ⁽⁴⁾Asistencia Respiratoria. Hospital de Infecciosas FJ Muñiz, GCBA. ⁽⁵⁾Jefe de División de HIV/SIDA. Hospital de Infecciosas FJ Muñiz, GCBA. E-mail: marisa.fernandez@gmail.com

La reactivación de la infección crónica por *Trypanosoma cruzi* en personas con VIH/SIDA tiene una elevada mortalidad. La variabilidad de la sensibilidad de los métodos diagnósticos empeora su pronóstico. Se realizó un análisis retrospectivo de pacientes con reactivación por *T. cruzi* y VIH/SIDA asistidos en el Hospital de Infecciosas FJ Muñiz entre 1992 y 2014. La reactivación se definió como la detección de tripomastigotes por microscopía en líquido cefalorraquídeo (LCR) o Strout; o amastigotes en biopsias de cerebro. Se diagnosticaron 23 pacientes. La mortalidad a los 30 días fue del 61%, y sólo 17% sobrevivieron más de un año. Los métodos diagnósticos utilizados fueron: Serologías para *T. cruzi*. Se obtuvieron en 21 pacientes: 16 duplas reactivas, 4 no reactivas y 1 discordante. El recuento promedio de linfocitos T CD4+ en el grupo reactivo fue de 74 cel/uL (4-241), mientras que en los no reactivos y discordante fue de 163 cel/uL (1-501) LCR. De 23 muestras (3 pacientes con 2 LCRs) en 17 se detectaron tripomastigotes. De las 6 negativas: 3 fueron extraídas días antes a las muestras positivas, 1 fue del paciente sin compromiso del sistema nervioso central, 1 de un paciente con lesión en imagen de cerebro y parasitemia; y 1 el diagnóstico se confirmó post mortem. Sangre periférica. De 12 muestras, sólo en 4 se detectaron tripomastigotes. Biopsia de cerebro. En 3 necropsias, y 1 biopsia esterotáxica, se observaron nidos de amastigotes en tejido cerebral. Otro paciente presentó una biopsia cerebral con un primer diagnóstico de toxoplasmosis, y 9 meses después se hallaron tripomastigotes en LCR. Los métodos diagnósticos convencionales de la reactivación por *T. cruzi* tienen baja sensibilidad. Las muestras con mayor sensibilidad (LCR o biopsias cerebrales) se obtienen mediante procedimientos invasivos. Es necesario establecer algoritmos diagnósticos más sensibles, como podría ser la biología molecular, para mejorar el pronóstico de los pacientes.

DyQ24- CEPA PARASITARIA Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO TRIPANOCIDA: PRESENTACION DE UN CASO

Evelyn Arias, Verónica Olivera, María L Bizai, Santiago Suasnábar, Enrique Arias, Diana Fabbro.

Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. E-mail: eve-arias@hotmail.com

Se presenta un caso clínico de una paciente seguida durante 35 años con negativización serológica 27 años post tratamiento tripanocida. No obstante evolucionó electrocardiográficamente de manera errática requiriendo la colocación de un marcapaso definitivo. Datos al ingreso: paciente de 22 años, serología (HAI; IFI; AD) para Chagas (+), procedente de zona rural de Tostado (Santa Fe), con serología materna (+), sin transfusiones. Examen físico anodino, ECG normal, xenodiagnóstico (-), laboratorio normal. Recibe tratamiento con nifurtimox por 90 días con buena tolerancia. Después de 15 años de controles bianuales sin modificaciones clínicas ni electrocardiográficas, presenta bloqueo AV de primer grado. A los 49 años negativizó la serología. Ocho años después desarrolla bloqueo AV segundo grado de muy baja respuesta ventricular. Se le coloca marcapaso definitivo. La caracterización de la cepa parasitaria mediante MLS-PCR, realizada en la última muestra, mostró perfil de banda coincidente con TcI. Este resultado se contrapone con la ausencia de Ac anti-*T. cruzi* y abre un espacio de discusión sobre los métodos diagnósticos. Respecto a la clínica, se podría inferir que si bien el tratamiento fue a corta edad (22 años) la infección llevaba varios años pudiendo haber provocado daño parcial del sistema de conducción que no tuvo expresión en el ECG hasta sus 37 años. Se desconoce si tiempo después del tratamiento permanecieron activas reacciones inflamatorias tisulares por restos parasitarios. La respuesta favorable al tratamiento se evidenció por la seronegativización pero ello no evitó el desarrollo de afección cardíaca, generando interrogantes sobre el momento de la infección que condiciona la aparición de lesiones compatibles con la enfermedad. Los conceptos de cura serológica y clínica se discuten en el marco de esta presentación.

DyQ25- UTILIDAD Y CARACTERÍSTICAS DE LA INTRADERMOREACCIÓN DE MONTENEGRO EN UN ÁREA ENDÉMICA PARA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA.

Silvana P Cajal⁽¹⁾, Marisa Juárez⁽¹⁾, Nicolás Caro⁽¹⁾, Paola Barroso⁽²⁾, Maria Canabire⁽¹⁾, Carlos Hoyos⁽²⁾, Diego Marco⁽²⁾, Alejandro J Krolewiecki⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, Universidad Nacional de Salta. ⁽²⁾Instituto de Patología Experimental, Universidad Nacional de Salta. E-mail: alekrol@hotmail.com

INTRODUCCIÓN: La leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) es endémica en el norte de Argentina y su presentación más frecuente es la de lesiones únicas sin afectación sistémica. Las complicaciones mucosas son características de lesiones causadas por *Leishmania (Viannia) braziliensis*, la cual es responsable de la mayoría de los casos diagnosticados en nuestro país. El diagnóstico de laboratorio de certeza se basa en la identificación de amastigotes en lesiones; la intradermoreacción de Montenegro (IDRM) es un complemento diagnóstico basado en la respuesta de la inmunidad celular a antígenos parasitarios inyectados por vía intradérmica cuya respuesta se mide por el grado de induración local a las 48hs. Este trabajo procura determinar estas características en un área endémica. **MATERIALES Y MÉTODOS:** se seleccionaron pacientes de un centro de referencia para LTA asistidos entre el 01/01/2013 y 31/12/2014 cuya evaluación haya incluido IDRM (producida de una cepa local de *L. braziliensis* MHOM/AR/03/OLO1) y toma de muestra de lesiones para tinción por Giemsa y lectura microscópica. Se recabaron datos demográficos, clínicos y de laboratorio. Induraciones en la IDRM >5mm se consideraron positivas. **RESULTADOS:** se incluyeron 121 pacientes. La distribución por género fue de 82% masculino y 18% femenino y la mediana (+/-RIQ) de edad fue 42 (31/61). El diagnóstico de LTA se confirmó por frotis en 78 casos (64%) de lesiones sospechosas. La IDRM tuvo una alta concordancia con el frotis ($\chi^2 < 0,001$) encontrándose positividad por ambos métodos en 75 casos y negatividad en ambos en 24; entre las discordantes hubo 3 frotis positivos con IDRM negativa y 19 IDRM positiva con frotis negativo. La media de induración de IDRM no tuvo diferencias significativas entre muestras de alta y baja carga parasitaria en el frotis ni en pacientes de distinto sexo. **CONCLUSIONES:** la IDRM es un complemento diagnóstico de gran utilidad aún en áreas endémicas tanto en especificidad como en sensibilidad.

DyQ26- IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS INMUNODOMINANTES PARA LA CONFIRMACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE TOXOPLASMOSIS EN CAPRINOS

María L Gos, Lucía M Campero, Kevin D Steffen, Mariana Bernstein, Lais L Pardini, Juan M Unzaga, Gastón A Moré, María C Venturini.

Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP. CONICET. E-mail: gosmarialaura@gmail.com

La toxoplasmosis es una zoonosis producida por *Toxoplasma gondii* que causa problemas reproductivos en caprinos. El diagnóstico serológico en nuestro país se realiza principalmente por Inmunofluorescencia Indirecta, pero serían necesarias técnicas más específicas para la confirmación de la infección. El objetivo de este estudio fue analizar sueros caprinos por la técnica de Inmunoblot (IB) para identificar los antígenos inmunodominantes (IDAs) específicos. Se analizaron 100 sueros caprinos, usando como antígeno el sonicado de taquizoítos de la cepa RH de *T. gondii* en condiciones no reducidas. Las proteínas se separaron por electroforesis en geles de poli(acrilamida) (SDS-PAGE) y se transfirieron a membranas de fluoruro de polivinilideno (PVDF). Éstas últimas se cortaron y se incubaron con los sueros problema, poniendo en evidencia la unión antígeno- anticuerpo con un conjugado anti-cabra unido a peroxidasa, utilizando H₂O₂ como sustrato y en presencia de 4-cloronaftol como cromógeno. Se identificaron las proteínas de 34, 32, 30, 28 y 19 kDa como IDAs considerándose una muestra positiva cuando reaccionó por lo menos a dos de ellas. Del total, 21 muestras fueron positivas, en las que la detección de las bandas de 34 y 30 kDa fue constante, mientras que las de 32, 28 y 19 kDa fue variable. De las muestras negativas (n= 79), 21 reaccionaron con la proteína de 34 kDa. Las fracciones de 30 y 34 kDa son los antígenos principales para el diagnóstico de toxoplasmosis en caprinos. La banda de 30 kDa es la más específica, sin ser detectada en las muestras identificadas como negativas. Sin embargo, la reacción positiva de la banda de 34 kDa debe considerarse si se detecta en conjunto con alguno de los demás IDAs (32, 30, 28 y 19 kDa). La prueba de IB puede ser utilizada en combinación con otras técnicas para incrementar la especificidad en el diagnóstico de toxoplasmosis en caprinos.

DyQ27- ASPECTOS DEMOGRÁFICOS Y DIAGNÓSTICO DE UNA POBLACIÓN AFECTADA POR LEISHMANIASIS EN UN CENTRO REFERENCIA NACIONAL

Stella M Lopez, Victoria Fragueiro Frias, Vanesa Negri, Adelina Riarte.

INP "Dr. Mario Fatala Chaben", CABA. E-mail: stmlopez@yahoo.com

Las leishmaniasis tegumentaria (LT) asociada a población rural de escasos recursos y la visceral humana (LVH) asociada a población urbana, pertenecen a la categoría de enfermedades olvidadas, transmitidas por vectores y producidas por protozoarios. La degradación ambiental, la precariedad sanitaria y de vivienda, facilitan la proliferación de vectores y transmisión de la enfermedad. La LT provoca nódulos y úlceras en piel, que aparecen luego de un tiempo y tras la cura clínica, pueden recidivar en mucosa nasal y bucal.

Estas enfermedades varían desde un compromiso cutáneo o mucoso hasta un compromiso sistémico asociado a una evolución letal en LVH.

El INP, laboratorio de Referencia Nacional en el diagnóstico de Leishmaniasis recibe muestras de pacientes para diagnóstico y/o confirmación, utilizando técnicas parasitológicas: frotis, cultivo, PCR e inmunológicas/serológicas: IDRM y rK39.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar el perfil demográfico y diagnóstico de la población evaluada en el periodo 2013/14. Los datos se obtuvieron del registro de ingreso y se elaboró una base de datos con el programa SPSS®.

Resultados: de los casos sospechosos se confirmaron el 55% (47/86); de los cuales, el 34% (16/47) fueron mucocutáneas. El 38% (18/47) provenían de países limítrofes, la mayoría de Paraguay y Bolivia, 21% (10/47) del NOA, 12% (6/47) del NEA, 12% (6/47) de CABA-GBA y 10% (5/47) del Centro. De los pacientes confirmados el 72,3% (34/47) eran hombres entre 41 y > 70 años, de los cuales el 21.2% (10/47) desempeñan tareas rurales. De los casos sospechosos de LVH, 2 (2/85) fueron positivos.

Conclusión: en los casos confirmados de LT la mayoría pertenecían a países limítrofes, con un amplio rango de edad y un predominio de adultos mayores. Si bien son escasos los datos de ocupación por falta de registros, sugieren que los afectados con LT son mayormente hombres trabajadores rurales.

DyQ28- EFECTO DE NUEVOS INHIBIDORES DE CRUZIPAÍNA EN UN MODELO DE CHAGAS CRÓNICO

María L Sbaraglini⁽¹⁾, Carolina L Bellera⁽¹⁾, Giuliano A San Vitale Villota⁽²⁾, Alan Talevi⁽¹⁾, Carolina Carrilo⁽³⁾, Catalina Alba Soto⁽²⁾.

⁽¹⁾Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. ⁽²⁾Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica. ⁽³⁾Instituto Milstein. E-mail: mariasbara@gmail.com

La enfermedad de Chagas se trata en la actualidad con Benznidazol y Nifurtimox. Ambos fármacos presentan una limitada efectividad en la etapa crónica de la enfermedad e importantes efectos adversos. Esto evidencia la necesidad de desarrollar nuevas terapias tripanocidas.

Recientemente, mediante búsqueda asistida por computadora en bases de fármacos aprobados para uso clínico, encontramos que Benidipina y Clofazimina son inhibidores de cruzipaína. Ambos compuestos mostraron: disminución de la proliferación de epimastigotes (IC50 <20µM), de la invasión celular y del número de amastigotes *in vitro*; y 50% de reducción de la parasitemia en un modelo murino de Chagas agudo.

En este trabajo comenzamos a estudiar la efectividad de estos inhibidores en un modelo de infección murino de Chagas crónico empleando la cepa de *T. cruzi* K98, que no es letal en etapa aguda y produce importante daño muscular en etapa crónica. Se infectaron ratones C3H con 10⁵ parásitos/ratón (intraperitoneal). A los 90 días post-infección los ratones se dividieron en cuatro grupos para su tratamiento por vía oral durante 30 días con Benidipina (15 mg/kg/día), Clofazimina (30 mg/kg/día), Benznidazol (100 mg/kg/día) y controles (sin tratar). Pre y post-tratamiento se tomaron muestras de sangre, de músculo estriado esquelético y cardíaco. El estudio serológico no reveló diferencias significativas en la producción de IgG *T. cruzi* específica entre los grupos ensayados (145 dpi). Sin embargo, el análisis histopatológico de los tejidos musculares mostró una disminución en el índice de inflamación difusa (número de núcleos/área tejido), el tamaño de los infiltrados focales (área infiltrada/campo) y de reemplazo adiposo (número de adipocitos/campo) respecto al control sin tratar (P<0,05) tanto para Benidipina y Clofazimina como para el tratamiento patrón con Benznidazol.

Estos fármacos mostraron resultados promisorios en el modelo crónico disminuyendo el daño histopatológico. Esto podría impulsar el estudio en terapias combinadas con Benznidazol.

DyQ29-CO2- EFECTO SINÉRGICO ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI DE BENZNIDAZOL COMBINADO CON CLOMIPRAMINA

Mónica C García⁽¹⁾, Nicolás E Ponce⁽²⁾, Liliana M Sanmarco⁽²⁾, Rubén H Manzo⁽¹⁾, Héctor W Rivarola⁽³⁾, Alvaro F Jimenez-Kairuz⁽¹⁾, M Pilar Aoki⁽²⁾.

⁽¹⁾Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA)-CONICET. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. ⁽²⁾Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI)-CONICET. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. ⁽³⁾Centro de Estudios e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. E-mail: mgarcia@fcq.unc.edu.ar

La enfermedad de Chagas es considerada una enfermedad desatendida. El fármaco de elección para su tratamiento es el benznidazol (BZ), pero sus propiedades fisicoquímicas desfavorables y efectos adversos condicionan su uso. Nuevos blancos moleculares como la enzima tripanotona reductasa, exclusiva del orden *Kinetoplastide*, resultan de interés terapéutico y clomipramina (CMP) es un efectivo inhibidor. Nuestro objetivo fue evaluar *in vitro* e *in vivo* los efectos de la acción combinada de BZ y CMP.

Para los estudios *in vitro* se desarrolló el método checkerboard test. Se incubaron 10⁶ trypomastigotes/mL (cepa Tulahuen) en medio DMEM enriquecido con sangre periférica murina. Los fármacos se utilizaron en un rango de concentración de 0-64 µg/mL. Los resultados graficados en isoblogramas permitieron calcular el índice de combinación, obteniendo un valor de 0,375; indicativo de sinergismo entre CMP y BZ.

Para evaluar *in vivo* la eficacia y seguridad del tratamiento, ratones BALB/c fueron infectados con 10^3 trypomastigotes vía ip y tratados diariamente a partir de las 24 h post-infección (pi) durante 14 días por vía per-oral, empleando diferentes dosis de BZ (12,5-100 mg/kg), calculadas a partir de los experimentos *in vitro*, sólo o en combinación con CMP a dosis fija (7,5 mg/kg). Al día 15 y 90 pi se determinó la parasitemia, el peso de bazos y corazones, nivel sérico de marcadores de daño tisular y cambios histopatológicos cardíacos. A 15 días pi BZ en dosis de 25 mg/kg no logró anular la parasitemia, sin embargo, la acción sinérgica de CMP permitió un efecto tripanocida eficaz ($p < 0,001$). Durante la fase crónica (90 días pi) los animales tratados con ambos fármacos presentaron menor daño cardíaco, evaluado por el índice de inflamación miocárdica ($p < 0,05$) y las alteraciones electrocardiográficas.

El efecto sinérgico de BZ-CMP claramente evidencia una potencial utilidad terapéutica antichagásica que permitiría el empleo de menores dosis de BZ con mayor eficacia y seguridad.

DyQ30- DESARROLLO DE DOS MODELOS MURINOS DE NEOSPOROSIS CONGÉNITA Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UN TEST-DIAGNÓSTICO PARA SU DETECCIÓN

Sofía A Bengoa Luoni⁽¹⁾, Diana Bacigalupe⁽²⁾, María C Venturini⁽²⁾, Marina Clemente⁽¹⁾, Valeria A Sander⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones Biotecnológicas- Instituto Tecnológico de Chascomús CONICET-UNSAM. ⁽²⁾Laboratorio de Inmunoparasitología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. E-mail: bengoaluoni@gmail.com

La primoinfección con *N. caninum* durante la preñez es una de las principales causas de abortos bovinos y equinos. Generamos 2 modelos murinos de neosporosis, uno a partir de la infección con taquizoitos de la cepa NC-1 (mundial) y otro con taquizoitos de la cepa NC-6 Argentina dado que la cepa involucrada en la infección determina importantes diferencias en el desarrollo de la patología. Brevemente, el día 7,5 de preñez hembras BALB/c fueron divididas en 3 grupos; uno recibió una dosis subcutánea de $2 \cdot 10^6$ taquizoitos NC-1, otro $4 \cdot 10^6$ taquizoitos de NC-6 Argentina; y el tercero recibió PBS 1X (control: C). Se les permitió parir. Las hembras no mostraron signos clínicos de la patología. El número de crías (nc) por camada fue significativamente menor en NC-1 que en C, sin mostrar diferencias el grupo NC-6 respecto de C. No se observó mortalidad neonatal (nc muertas desde el parto al día 7 post-parto) ni post-natal (nc muertas desde el día 7 al 60 post-parto) en NC-6 ni C, mientras que en NC-1 fueron de 23,5%/u. Posteriormente, con el fin de desarrollar un test para diagnosticar la infección se clonó y expresó en una línea bacteriana la proteína NcSAG1, utilizada como antígeno sensibilizante en un protocolo de ELISA indirecto mediante el que se cuantificaron IgGt. Se analizaron los sueros de las madres infectadas y sus crías (NC-1 y NC-6) y como controles se utilizaron sueros de madres y crías no infectadas y sueros de ratones con toxoplasmosis (ME-49). Las absorbancias obtenidas a partir de las muestras de sueros de animales infectados con *N. caninum* fueron significativamente mayores a los de los controles y a los de los animales infectados con *T. gondii* ($a = p < 0,001$ vs. PBS). Estos resultados sugieren que los efectos causados por la infección congénita con NC-1 son mas graves que los de NC-6 Argentina. Asimismo, el test de ELISA indirecto resulta eficaz para diagnosticar la neosporosis en el modelo murino, alentándonos a evaluar su validez en otros hospedadores.

DyQ31- ACTIVIDAD TRIPANOCIDA DE DERIVADOS SEMISINTÉTICOS DE LA LACTONA SESQUITERPÉNICA CUMANINA

M Florencia Beer^(1,2), Orlando Elso^(1,3), Natacha Cerny^(4,5), Augusto E. Bivona^(4,5), Mariana Selener^(1,3), Emilio Malchiodi^(4,5), Virginia Martino⁽¹⁾, Silvia Cazorla⁽⁶⁾, Osvaldo Donadel⁽²⁾, Valeria Sülsen^(1,3)

⁽¹⁾IQUIMEFA (UBA-CONICET). ⁽²⁾INTEQUI (CONICET). ⁽³⁾Cátedra de Farmacognosia – FFyB, UBA. ⁽⁴⁾Cátedra de Inmunología, FFyB, UBA. ⁽⁵⁾IMPAM (UBA-CONICET), Facultad de Medicina, UBA. ⁽⁶⁾Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA. E-mail: florenciabeer@hotmail.com

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana afecta a 6-7 millones de personas en el mundo. Los fármacos disponibles para su tratamiento presentan limitaciones a causa de sus efectos adversos, toxicidad y falta de eficacia en la etapa crónica de la enfermedad. Los compuestos de origen natural y sus derivados han hecho una contribución significativa a la quimioterapia de las enfermedades parasitarias (Ej.: artemisinina, quinina). La modificación química de compuestos naturales constituye una estrategia para mejorar la actividad y disminuir los efectos tóxicos. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad tripanocida de análogos obtenidos a partir de la lactona sesquiterpénica activa cumarina. Se obtuvieron cuatro derivados a partir de cumarina: el correspondiente acetato, y los sililderivados usando trimetilsilano, dimetilisopropilsilano y terbutildifenilsilano. Cumarina y sus derivados fueron evaluados sobre epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* mediante la técnica de incorporación de ^3H -timidina. El acetato de cumarina resultó el derivado más activo con un valor de IC_{50} de $3.24 \mu\text{g/ml}$ y comparable con el de cumarina ($\text{IC}_{50} = 2.98 \mu\text{g/ml}$). Los derivados sililados presentaron valores de IC_{50} superiores a $30 \mu\text{g/ml}$. Se ha demostrado que el acetato de cumarina fue activo *in vitro* sobre epimastigotes. Actualmente se está evaluando su citotoxicidad sobre células de mamífero para poder determinar su selectividad de acción. A futuro se continuará con la evaluación de su actividad frente a los estadios tripomastigotes y amastigotes.

DyQ32- VALIDACIÓN DE UNA PRUEBA DE ELISA INDIRECTO BASADO EN UN MULTIANTÍGENO RECOMBINANTE PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *BABESIA BOVIS*

José M Jaramillo Ortiz, Valeria Montenegro, Sofía AM de la Fournière, Marisa D Farber, Silvina E Wilkowsky.

Laboratorio de Hemoparásitos - CICVyA- INTA, Castelar. E-mail: pepuspepii@gmail.com

Los parásitos protozoarios intraeritrocíticos *Babesia bovis* y *B. bigemina* son los agentes etiológicos de la babesiosis bovina, una enfermedad transmitida por garrapatas con gran relevancia económica en el norte argentino. Actualmente, una de las pruebas serológicas de rutina para la detección de esta infección es un ELISA indirecto basado en merozoítos obtenidos en cultivo. La principal desventaja que presenta esta técnica es el elevado costo en la producción del antígeno nativo al tiempo que su obtención resulta laboriosa. Una alternativa sería el desarrollo de antígenos recombinantes que reemplacen el uso de lisados parasitarios. En este trabajo se desarrolló un ELISA indirecto basado en un multiantígeno recombinante de *B. bovis* (MABbo) formado por la fusión de regiones antigénicas de las proteínas MSA-2c, RAP-1 y HSP20. Para la validación del ELISA se emplearon sueros negativos provenientes de terneros nacidos y criados en una región libre de garrapatas (n=150) y sueros positivos para el ELISA de merozoítos (n=84) provenientes de una región enzoótica. Los resultados se expresaron como porcentajes de positividad respecto de sueros patrón provenientes de animales infectados experimentalmente con *B. bovis*. Los datos se analizaron por el método estadístico de curvas ROC estableciéndose un punto de corte de 33.4 % con una especificidad y sensibilidad máxima de 86% y 83% respectivamente en un intervalo de confianza del 95%. El test de concordancia entre ambos ELISAs arrojó un valor de índice k de 0,87. Finalmente con el punto de corte establecido, se evaluaron 303 sueros provenientes de la Guyana Francesa (cedidos gentilmente por la Dra. Nathalie Vachieri, UMR CIRAD-INRA Guadalupe, Francia). De esta muestra, 171 (56.43%) sueros resultaron positivos, mientras que 132 (43.56%) resultaron ser negativos para el ELISA - MABbo. El desarrollo de esta técnica menos costosa podría ser una alternativa comercial en el diagnóstico de la babesiosis bovina en nuestro país.

DyQ33- PARÁSITOS Y COMENSALES INTESTINALES EN PACIENTES SINTOMÁTICOS DE CORRIENTES, ARGENTINA

Cristina M Gené, Adriana I Fleitas, María JF Rea, Carlos E Borda.

Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP), Facultad de Medicina, UNNE. E-mail: cristinagene@hotmail.com

Las regiones tropicales y subtropicales reúnen características geográficas y climatológicas que contribuyen a las necesidades biológicas de helmintos y protozoarios, permitiendo su diseminación. Aunque no se ha observado *Schistosoma mansoni* en Argentina existe riesgo de transmisión, pues en el CENPETROP se logró la infección experimental de moluscos de Corrientes con el parásito, por lo que es importante su búsqueda en las heces de los pacientes. Objetivo: demostrar los parásitos prevalentes en personas con sintomatología asistidas en 2014. Heces preservadas y moco perianal en colecta de seis días se estudiaron con las técnicas de Hoffmann, Pons & Janer y Graham y frescas con las de Baermann y Harada-Mori. Se examinaron 201 pacientes con edades de 15 a 93 años. En 41,8% (84) hubo 9 especies de parásitos: *Blastocystis hominis* 26,9%, *Giardia lamblia* 2,5%, *Strongyloides stercoralis* 14,4%, uncinarias 3,5%, *Enterobius vermicularis* 3,0%, *Tenia saginata* 2,0%, *Ascaris lumbricoides* 1,0%, *Trichostrongylus sp* y *Hæmonchus sp* 0,5%. *S. stercoralis*, *E. vermicularis*, *B. hominis* y *G. lamblia* se hallaron en todas las edades. En 25 (29,7%) hubo coinfección de dos o más especies. Una mujer de 86 años presentó *A. lumbricoides*, uncinarias y *B. hominis*. Protozoos: 54 personas presentaron *B. hominis*. De ellas, en 20 hubo infecciones mixtas con helmintos. *G. lamblia* fue hallada en 5 pacientes: en 3 con otros protozoos y uno con uncinarias. Los comensales *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* siempre se encontraron en infecciones mixtas. Helmintos: *S. stercoralis* parásito a 29 individuos: 15 como única infección, 12 con *B. hominis*, uno con uncinarias y uno con *Hæmonchus sp*. De 7 pacientes con uncinarias, en 4 hubo coinfección con *S. stercoralis*, *A. lumbricoides*, *B. hominis* y *G. lamblia*. Aunque *S. mansoni* no fue observado, es importante su identificación por las constantes migraciones de personas desde áreas endémicas del Brasil.

DyQ34- EVALUACIÓN DEL EFECTO *IN VITRO* DE LA NORFLOXACINA SOBRE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Giuliano San Vitale, Catalina Alba Soto, Cristian Miranda, María E Solana.

IMPaM. Depto Microbiología. Fac. Medicina. UBA. E-mail: melisolana@yahoo.com.ar

Las DNA topoisomerasas (Top) son enzimas ubicuas responsables de disolver las tensiones de torsión causadas durante los procesos de replicación y de transcripción del ADN nuclear y kinetoplastídico, así como del mantenimiento de la estabilidad genómica durante la recombinación de ADN. Su inhibición produce arresto celular y desencadena muerte celular, por tal razón los inhibidores de Top son ampliamente usados en terapias oncológicas y antibacterianas. Si bien se han ensayado algunos compuestos frente a *Leishmania* y tripanosomas africanos, su actividad frente a *Trypanosoma cruzi* ha sido escasamente explorada. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro* la acción de Norfloxacin (NOR), inhibidor de TopII procariótica, contra *T. cruzi*. Células Vero infectadas con tripomastigotes sanguíneos (trip) de la cepa RA (relación 1:5) durante 3hs a 37°C y 5% CO2 fueron tratadas con 30-1000 µM de (NOR) por 72 hs. Finalizado el tratamiento, las monocapas

fueron teñidas con Giemsa y se determinó la actividad contra *T. cruzi* mediante el recuento del número de amastigotes/célula utilizando el software ImageJ. La NOR mostró un efecto inhibitorio dependiente de la concentración con un valor de IC₅₀ de 100 µM (intervalo con 95% de confianza 80,56- 121,7). La droga presentó un índice de selectividad > 8 por ensayo de reducción de resazurin sobre esplenocitos murinos al probarla en concentraciones de 160-6263 µM. La droga no presentó acción inhibitoria sobre los trip ya que carecen de capacidad replicativa. Los resultados obtenidos alientan a profundizar el estudio de NOR y extenderlo a otros inhibidores de Top eucarióticas. Financiado por CONICET y UBACyT.

DyQ35- EFECTO DE LA LACTONA SESQUITERPÉNICA DEOXIMIKANOLIDO SOBRE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Laura Cecilia Laurella^(1,2), Fernanda M. Frank^(3,4), Augusto Bivona^(3,4), Natasha Cerny⁽⁴⁾, M Florencia Beer^(1,5), Cesar Catalan⁽⁶⁾, Emilio Malchiodi^(3,4), Virginia Martino^(1,2), Maria R Alonso⁽¹⁾, Silvia Cazorla⁽⁷⁾, Elisa Lombardo^(8,9), Valeria Sülsen^(1,2).

⁽¹⁾IQUIMEFA (UBA-CONICET). ⁽²⁾Cátedra de Farmacognosia-FFyB-UBA. ⁽³⁾IDEHU (UBA-CONICET). ⁽⁴⁾IMPaM (UBA-CONICET). ⁽⁵⁾INTEQUI (CONICET). ⁽⁶⁾INQUINOA (CONICET). ⁽⁷⁾Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA. ⁽⁸⁾CIPYP (UBA-CONICET). ⁽⁹⁾Hospital de Clínicas José de San Martín, UBA. E-mail: laurellacecilia@hotmail.com

La enfermedad de Chagas, producida por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, afecta a millones de personas en el mundo, principalmente a poblaciones pobres de los países en desarrollo y con un acceso limitado a los servicios de salud. Para el tratamiento de esta parasitosis se utiliza principalmente el benznidazol, que dista de ser una droga ideal debido a los efectos adversos y escasa efectividad que presenta en la etapa crónica de la enfermedad. Las lactonas sesquiterpénicas (STLs) son compuestos naturales que son promisorios como potenciales agentes antiparasitarios. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la STL deoximikanolido, aislada a partir de especies del género *Mikania*, sobre *Trypanosoma cruzi*. La actividad sobre epimastigotes se evaluó mediante la técnica de incorporación de ³H-timidina. Este compuesto fue activo con un valor de IC₅₀ de 0.085 µg/ml. Esta STL también presentó actividad sobre las formas infectivas e intracelulares de *T. cruzi* (IC₅₀ de 1.47 y 6.35 µg/ml, respectivamente). Se evaluó la citotoxicidad sobre células de mamíferos mediante la técnica del MTT. Esta STL presentó una CC₅₀ de 79.37 µg/ml y demostró selectividad de acción como antiparasitario. En lo que respecta al mecanismo de acción, deoximikanolido no presentó interacción con la hemina. A las 24 h de tratamiento se observó una disminución del 89.5% en el contenido de tioles libres, con una actividad de superóxido dismutasa y tripanotona reductasa disminuidas en un 39.6 y 38.2, respectivamente. El estado oxidativo intracelular, evaluado por citometría de flujo con la sonda fluorescente H₂DCFDA, produjo a las 24 h de tratamiento un daño equivalente al observado para 25 µM de H₂O₂. La STL deoximikanolido fue activa *in vitro* sobre los distintos estadios de *T. cruzi*. Esta STL produjo alteraciones significativas en el sistema de defensa antioxidante en epimastigotes. A futuro se continuará con la evaluación de deoximikanolido en modelos *in vivo*.

DyQ36-CO6- COMPARACIÓN DE NUEVOS MÉTODOS DE AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA DE ADN (LAMP Y RPA-LF) PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA POR *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Rocío Rivero^(1,4), Alejandro Castellanos-Gonzalez⁽²⁾, Omar Saldarriaga⁽²⁾, Elsa B Velázquez^(1,4), Mónica I Esteva⁽¹⁾, Margarita Bisio⁽³⁾, Bruno Travi⁽²⁾, Andrés M. Ruiz^(1,4).

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben. ⁽²⁾University of Texas Medical Branch (UTMB), Texas, USA. ⁽³⁾Hospital de Niños, Ricardo Gutierrez. ⁽⁴⁾CONICET. E-mail: rocior_04@yahoo.com.ar

La Amplificación de la Polimerasa Recombinasa (RPA) es un método de amplificación isotérmica que se obtiene mediante la unión de oligonucleótidos complementarios al ADN molde y su extensión por una ADN polimerasa. La RPA puede adaptarse fácilmente para la detección visual en una tira de flujo lateral RPA-LF (lateral-flow) utilizando una sonda de oligonucleótidos internos específicos a la secuencia amplificada (Castellanos y col. 2015). La técnica de LAMP se basa en el principio de síntesis de ADN por desplazamiento de cadena. Efectuado por la enzima *Bst*, una ADN polimerasa con actividad de desplazamiento y cuatro oligonucleótidos, que reconocen un total de seis secuencias distintas en el ADN blanco. La amplificación isotérmica, se obtiene en una hora y es posible la lectura directa del producto amplificado, por la adhesión de sustancias que se integran al producto. El objetivo del estudio fue comparar ambas técnicas de amplificación de ADN isotérmicas para el diagnóstico de infección congénita por *T. cruzi*. En UTMB se diseñaron primers para RPA-LF con una longitud de 30-35 nucleótidos para el mini-círculo del Kinetoplasto (kADN). Para LAMP se utilizaron los primers reportados por Thekisoe *et al.* 2010, modificando ligeramente las condiciones. Los productos de la amplificación de RPA y LAMP no cruzaron con *Leishmania* spp. El límite analítico de detección del ensayo de RPA para *T. cruzi* fue menor a 2 equivalentes de parásitos por mililitro versus de 10 equivalentes de parásito por mililitro de sangre para LAMP. Los resultados obtenidos indican que la RPA-LF puede surgir como una alternativa frente a las técnicas convencionales para el diagnóstico de *T. cruzi*. El método es aplicable en condiciones de campo ya que no requiere equipos costosos para la amplificación así como para la lectura de los resultados.

DyQ37- ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA: CARGA PARASITARIA Y CARDIOPATÍA CHAGÁSICA

Werner Apt⁽¹⁾, Inés Zulantay⁽¹⁾, Miguel Saavedra⁽¹⁾, Arturo Arribada⁽²⁾, Valeria Pizarro⁽³⁾, Bruno Toro⁽³⁾, Bastián Vega⁽³⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Parasitología Básico Clínico. Programa de Biología Molecular y Celular. Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. ⁽²⁾Clínica INDISA. ⁽³⁾Ayudantes Alumnos de Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. E-mail: wapt@med.uchile.cl

Actualmente no hay biomarcadores que revelen si los pacientes con enfermedad de Chagas crónica indeterminada desarrollarán la enfermedad cardíaca. En este estudio se intenta dilucidar si la carga parasitaria se relaciona con el desarrollo de cardiopatía y la magnitud de ella. Con este fin, se midieron dos variables: i) Electrocardiograma de 12 derivaciones (ECG), elemento fundamental de diagnóstico clínico de la cardiopatía chagásica crónica (CCC) y de acuerdo a sus resultados, clasificar en grados de cardiopatía (I-IV), según los criterios de la New York Heart Association (NYHA) ii) Carga parasitaria de *Trypanosoma cruzi* cuantificada en muestras de sangre a través de PCR en Tiempo Real (qPCR). Se compararon las cargas parasitarias en 85 individuos con cardiopatía chagásica (Grupo 1) versus 85 individuos sin cardiopatía (Grupo 2). Los resultados del ECG fueron analizados por cardiólogo especialista, de acuerdo a los criterios internacionales establecidos. qPCR se realizó utilizando los partidores satelitales Cruzi 1-Cruzi 2 y sonda Cruzi 3 con sistema de detección TaqMan. Mediante la aplicación de la prueba de Mann-Whitney con un error Tipo I máximo de 0.05, se compararon los promedios de la carga parasitaria en los Grupos 1 y 2, de 0.55 y 0.30 parásitos equivalentes/ml, respectivamente, determinándose que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las cargas de ambos grupos (p=0.96). En el Grupo 1, solo fue posible cuantificar *T. cruzi* en 72 casos. De ellos, 30 individuos presentaron Grado I y 42 Grado II de cardiopatía según clasificación NYHA, con un promedio de 0.39 y 0.66 parásitos equivalentes/ml respectivamente, existiendo diferencias significativas (p=0.02). Los resultados indican que la carga parasitaria evaluada mediante qPCR, sería indicador del grado de compromiso cardíaco y predictor de evolución de la CCC.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1120382

DyQ38-CO6- FORMULACION MAGISTRAL DE BENZNIDAZOL: TRATAMIENTO EN CHAGAS CONGENITO

Maria A. Serjan⁽¹⁾, Maria T. Orcinoli⁽¹⁾, Karenina Scollo⁽²⁾

⁽¹⁾Htal Juan A. Fernandez, CABA. ⁽²⁾INP "Dr. Fátala Chaben", CABA. E-mail: maserjan6@hotmail.com

La formulación magistral facilita la administración de medicamentos a niños. Es una formulación huérfana, preparada por un farmacéutico, por prescripción médica de un compuesto medicinal de indicación avalada. Este recurso, para tratamiento compasivo en pacientes con diagnóstico confirmado es muy útil, cuando el fármaco se encuentra disponible solo en comprimidos.

Objetivo: Informar el tratamiento y su resultado, con una formulación magistral de Benznidazol en niños hasta 12 meses de vida, con Chagas Congénito.

Pacientes y métodos: Desde 2/01/2013 al 30/12/2014 se trataron doce pacientes chagásicos congénitos; detectados desde el nacimiento hasta 12 meses de vida con: parasitemia (+): 9p.(75%) y con pruebas serológicas: IFI, HAD, ELISA: 3 p.(25%) luego del 7º mes de vida. La edad de diagnóstico: 14 días a 12 m y los pesos: 1020 g hasta 11,200g. Para administrar Benznidazol oral a pacientes prematuros (3p <1200g.); se elaboró (Laboratorio de Preparaciones Magistrales del Servicio de Farmacia del Htal. Fernández), una suspensión con concentración: 10 mg/ml, a partir de comprimidos ranurados (ABARAX[®] ELEA): con formulación: Benznidazol 50 mg (40 comp.), Sorbitol 70% (50ml); Carboximetilcelulosa sódica al 1% (50 ml), Acido cítrico csp pH 4.5 y Jarabe simple (F.A. VI ed.) c.s.p. (200 ml); según Formulaciones Magistrales OPS-OMS. Se indicó tratamiento a 5 mg/kg/día, en 2 tomas diarias durante 60 días, con controles de parasitemia (7 y 14 días) y evaluaciones bioquímicas. A los seis meses post-tratamiento las pruebas serológicas.

Resultados: Las parasitemias fueron negativas en 9 p; 11p negativizaron las p. serológicas a los 6 meses post tratamiento, 1 p. desertó. La tolerancia fue buena: 1 p. tuvo elevación transitoria de transaminasas y otro urticaria leve.

Conclusiones: La formulación magistral permitió adecuar la dosis y facilitó la administración oral de Benznidazol con resultados efectivos en neonatos pre- maturos y niños. Se desconoce su farmacocinética.

SECCIÓN: INMUNOLOGÍA Y PATOGENIA (IyP)

IyP1-CO4- ANTIBODY-DEPENDENT CELLULAR CYTOTOXICITY MECHANISMS: ROLE IN BALB/C AND C57BL/6 MICE DIFFERENTIAL SUSCEPTIBILITY TO *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* INFECTION

Gustavo Mourglia Ettlin, Sylvia Demattei.

Cátedra de Inmunología Facultad de Química Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. E-mail: gmourglia@higiene.edu.uy

Balb/c and C57Bl/6 mice are considered Th2- and Th1-prone strains, respectively, due to their differences in normal and pathological immune responses. In this regard, we have previously reported that Balb/c mice are more permissive to secondary cystic echinococcosis - an experimental model of infection by the helminth parasite *Echinococcus granulosus* - than C57Bl/6 animals. Protoscoleces - the most immune-susceptible parasite stage - are inoculated intraperitoneally in this model, hence being the early peritoneal response a key determinant in infection establishment. Thus, we have here analyzed the peritoneal cellular composition in 5-days-infected mice, and observed that C57Bl/6 animals - unlike Balb/c - are distinguished mainly by higher counts of macrophages and B cells, with lower counts of eosinophils. In vitro studies showed that normal peritoneal cells from both strains exhibit similarities in their protoscolicidal activity and nitrites production. Moreover, the addition of homologous normal serum significantly increased the protoscolicidal activity in both mice strains, suggesting a possible role of natural antibodies in the early anti-parasite response through antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) mechanisms. On the other hand, peritoneal cells from infected C57Bl/6 mice showed higher anti-parasite activity as well as higher nitrites secretion than Balb/c animals. Interestingly, the addition of homologous and infection-time-matched serum significantly increased anti-parasite activity only in peritoneal cells from C57Bl/6 mice. Thus, the very early antibody response induced in C57Bl/6 mice - unlike Balb/c - showed to efficiently enhance ADCC mechanisms. In summary, our results suggest that the differences in nitrites production by peritoneal cells and the ability of early-induced antibodies in triggering ADCC responses, could differentially contribute to *E. granulosus* infection susceptibility in Balb/c and C57Bl/6 mice.

IyP2-CO3- LAS PROTEÍNAS DE SUPERFICIE TCTASV-C DE TRIPOMASTIGOTES DE *TRYPANOSOMA CRUZI* SE SECRETAN MAYORITARIAMENTE EN VESÍCULAS PEQUEÑAS

Lucas Caeiro, Daniel O Sánchez, Valeria Tekiel.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo A. Ugalde", IIB-INTECH, UNSAM CONICET. E-mail: lucaniel@gmail.com

La familia multigénica TcTASV está conservada en los diferentes linajes de *T. cruzi* y no posee ortólogos en otros organismos. De acuerdo a la longitud, secuencia y motivos de la región central de los productos proteicos se definen 4 subfamilias. La subfamilia TcTASV-C, compuesta por aproximadamente 15 genes, se expresa en la superficie de tripomastigotes, se secreta al medio e interactúa con células de mamífero. Previamente hemos determinado que los tripomastigotes expresan simultáneamente más de un gen TcTASV-C y que los productos secretados difieren de los expresados en la superficie del tripomastigote. Como la vía de secreción puede determinar la funcionalidad de una proteína, en este trabajo estudiamos el mecanismo de secreción de TcTASV-C. Para ello, incubamos tripomastigotes in vitro durante 6 horas, y luego separamos los parásitos (pellet) del sobrenadante, que contiene vesículas de distintos tamaños y productos que se secretan libres. Este sobrenadante fue ultracentrifugado primero 2 hs. a 100.000 g para purificar vesículas grandes (100 a 300 nm) y luego 16 hs para obtener las vesículas pequeñas (50 a 100 nm) en el pellet y productos libres en el sobrenadante. Las distintas fracciones fueron analizadas por western blot. TcTASV-C se secretó mayoritariamente en vesículas pequeñas, pero también pudimos detectarla, en mucho menor medida, en el resto de las fracciones. En paralelo, también analizamos el perfil de secreción otras proteínas de *T. cruzi* (HSP70, GDH, SR62, etc). En resumen, TcTASV-C se secretaría principalmente en microvesículas, también llamadas ectosomas, que se forman a partir del shedding de la membrana celular y cuyo origen es diferente del de las vesículas más grandes, denominadas exosomas, que se generan a partir de endosomas tardíos fusionados con la membrana plasmática. La co-secreción de TcTASV-C en ectosomas con determinados productos de tripomastigotes, sería importante para la función de TcTASV-C en la infección con *T. cruzi*.

IyP3- ESTUDIO DEL PAPEL DE LA IL10 EN LA SOBREVIVENCIA DE LINFOCITOS DURANTE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *TRYPANOSOMA CRUZI*

Cristian G. Miranda, Agustina M. Pino Martínez, Estela I. Batalla, Giuliano A. San Vitale Villota, Silvia Repetto, Stella M. González Cappa, Catalina D. Alba Soto.

Facultad de Medicina, UBA. E-mail: cristiangam_@hotmail.com

Estudiando el papel de la IL10 en la enfermedad de Chagas experimental hemos descrito que la ausencia de esta citoquina no otorga resistencia a la infección murina ni confiere un mayor control de la carga parasitaria. Nuestros resultados previos muestran, en bazo de ratones deficientes en IL10 (IL10^{-/-}) a tiempos tempranos de la infección, una disminución significativa de linfocitos T (LT) CD8⁺. Siendo ésta la principal población encargada del control parasitario en órganos blanco, analizamos la relación entre la IL10 y los niveles de apoptosis linfocitaria en órgano linfóide secundario, en tejidos blanco y en los precursores tímicos. Infectamos ratones IL10^{-/-} y *wild type* (WT) con la cepa K98 de *T. cruzi* que es miotrópica y desarrolla una infección crónica. Para evaluar la apoptosis analizamos la expresión de anexina V por citometría de flujo en suspensiones celulares de bazo y timo e infiltrados de músculo cardíaco y esquelético. Encontramos que la población LT CD8⁺ esplénicas de ratones IL10^{-/-} (pero no la de LTCD4⁺) mostró un mayor porcentaje de células apoptóticas en etapas tempranas de la infección (10 a 25 dpi) en comparación con los LT CD8⁺ de ratones WT (P<0,05). Esto podría

explicar el menor número de LT CD8+ que registramos en ausencia de IL-10 a tiempos posteriores de la infección (42 dpi) en bazo y cuádriceps ($P < 0,05$). En timo, no observamos diferencias en el número de linfocitos CD4+CD8+ como tampoco en el porcentaje de células apoptóticas entre grupos. El menor porcentaje de LT CD8+ que se registró en bazo y tejidos infectados en ratones IL10-/- no se debería a una disminución en los precursores tímicos. Pero la mayor apoptosis de LT CD8+ esplénicos podría estar contribuyendo a la menor expansión de ésta población durante la respuesta primaria contra *T. cruzi*. Estudiaremos las vías apoptóticas involucradas y los mecanismos por los cuales la IL10 estaría regulando la supervivencia y proliferación de LT CD8+ durante la infección por *T. cruzi*.

IyP4-CO3- TRYPANOSOMA CRUZI POTENCIA LA POLARIZACIÓN ALTERNATIVA DE MACRÓFAGOS EN TEJIDO ADIPOSITO VISCERAL Y FAVORECE LA PROGRESION A DIABETES EN RATONES OBESOS

María E. Cabalén⁽¹⁾, María F. Cabral⁽¹⁾, Marta C. Andrada⁽¹⁾, Liliana M. Sanmarco⁽²⁾, María P. Aoki⁽²⁾, Susana Gea⁽²⁾, Roxana C. Cano^(1,2).

⁽¹⁾Facultad de Ciencias Químicas, UA Área CS. AGR. ING. BIO Y S CONICET. Universidad Católica de Córdoba, Córdoba.

⁽²⁾Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Córdoba. E-mail: eugecabalen@hotmail.com

El tejido adiposo (TA) como reservorio del *T. cruzi* ha engendrado un creciente interés en el estudio inmunometabólico de la interrelación parásito/ huésped. En este sentido, el efecto de la infección parasitaria crónica en un contexto nutricional excesivo, ha sido poco abordado. En un modelo de obesidad inducido con dieta moderada en grasas (14%), fructosa (5%) y 8mg/kg PC de estreptozotocina, en ratones C57BL/6 (DO), nuestro objetivo fue estudiar la modulación inmunometabólica en la infección crónica (24 semanas) con *T. cruzi* -cepa Tulahuen- (DO+I) y la repercusión inmune en TA visceral (TAV). Nuestros resultados mostraron que el grupo DO+I indujo una mejora significativa en la obesidad central y resistencia a la leptina, esteatosis cardíaca y dislipemia sistémica (triglicéridos y colesterol), comparado al grupo DO. Sin embargo, una alteración del perfil cualitativo de lipoproteínas con aumento significativo de la apolipoproteína B100 fue observado en DO y DO+I (4,4 y 4,5 mg/dL respectivamente vs Controles 3mg/dL, $p < 0,01$), sugiriendo la presencia de partículas pro-aterogénicas. El grupo DO+I desarrolló insulino resistencia periférica aguda, e hiperglucemia con hipoinsulinemia en la etapa crónica, indicando la progresión hacia una diabetes favorecida por la infección. En TAV, el estrés oxidativo (3,3 vs 0,8 $\mu\text{mol MDA}/\mu\text{g}$ proteína en DO+I vs DO, con $p < 0,01$) y la infiltración de macrófagos F4/80+CD11c-CD206+ (M2) fueron potenciados por el *T. cruzi* (12×10^6 en DO+I vs $4,3 \times 10^6$ en DO, $p < 0,001$), así como, la producción de MCP-1 por macrófagos M1 ($2,5 \times 10^6$ vs $0,3 \times 10^6$, $p < 0,001$) y M2 (4×10^6 vs 1×10^6 , $p < 0,001$). En TAV de ratones DO se demostró un aumento significativo del receptor CD36, pero no hubo un efecto sinérgico por la infección. En conclusión, durante la infección crónica, la inmunomodulación del TAV y la desregulación metabólica resultante favorecerían el perfil de macrófagos M2, la progresión a diabetes y eventos cardiovasculares en nuestro modelo de obesidad.

IyP6-CO7- EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA CELULAR HACIA TRYPANOSOMA CRUZI EN PACIENTES CON SEROLOGÍA DISCORDANTE

Melisa D. Castro Eiro⁽¹⁾, María G. Alvarez⁽²⁾, Gretchen Colley⁽³⁾, Rodolfo Viotti⁽²⁾, María C. Albareda⁽¹⁾, Marcos Petti⁽²⁾, Rick L. Tarleton⁽³⁾, Susana Laucella⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. M. Fátala Chaben". ⁽²⁾HIGA "Hospital Interzonal de Agudos Eva Perón", CABA.

⁽³⁾CTEGD "Center for Tropical and Emerging Global Diseases" UGA, Athens, Georgia, USA. E-mail: melisa_dce@yahoo.com.ar

Se ha descrito que individuos con antecedentes epidemiológicos para la infección por *T. cruzi* y serología discordante (al menos una prueba serológica positiva de tres realizadas) o negativa para los test convencionales, presentan respuesta celular contra *T. cruzi*. En este estudio se ha medido la respuesta específica contra el parásito a través de ensayos de ELISPOT y citometría de flujo policromática en un grupo de sujetos con serología discordante o negativa. Se incluyeron 21 individuos con serología discordante, 7 seronegativos y 9 seropositivos que nacieron en áreas endémicas para Chagas pero que han vivido fuera de dichas áreas por más de veinte años. La presencia de células productoras de IFN- γ e IL-2 fue analizada por ensayos de ELISPOT luego de estimular PBMCs con un lisado de amastigotes de *T. cruzi* o con proteínas recombinantes del parásito. Diecisiete de 21 (81%) sujetos con serología discordante exhibieron niveles elevados de linfocitos T productores de IFN- γ en respuesta a *T. cruzi*. La secreción simultánea de IFN- γ e IL-2 se detectó en 12 de 18 sujetos (67%) discordantes y en 2 de 7 seronegativos testeados para las dos citocinas, mientras que dos discordantes y un seronegativo presentaron producción de IFN- γ pero no de IL-2. En estos individuos también se encontró respuesta celular a las proteínas recombinantes con producción de IFN- γ . Los sujetos discordantes/seronegativos exhibieron más frecuentemente una respuesta celular CD4+ de 5 funciones (IFN- γ + IL-2+ TNF- α + MIP-1 β + CD154+) y respuestas polifuncionales enriquecidas en IL-2 en comparación con los seropositivos. La técnica de multiplex, utilizando un pool de proteínas recombinantes del parásito, confirmó que los individuos discordantes/seronegativos tienen un bajo nivel de anticuerpos específicos para *T. cruzi*. Estos resultados muestran una respuesta celular de memoria diferencial de los linfocitos T en individuos que han estado expuestos a *T. cruzi* y podrían reflejar la eliminación de la infección.

IyP7- IDENTIFICACIÓN BIOINFORMÁTICA DE PROTEASAS ROMBOIDALES DE BABESIA Y THEILERIA

Tomás J. Poklépovich Caride⁽¹⁾, Leandro R. Jara⁽²⁾, Mónica Florin-Christensen⁽¹⁾, Leonhard Schnittger⁽²⁾.

⁽¹⁾Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA castelar. ⁽²⁾Instituto de Patobiología, INTA castelar. E-mail: tcaride@gmail.com

Las proteínas romboidales constituyen una amplia familia de proteínas integrales de membrana, incluidas dentro de la familia S54 de las serina peptidasas, cuyo sitio activo está inmerso en la bicapa lipídica. Se encuentran tanto en procariotas como en eucariotas. Las romboidales han sido implicadas en procesos de señalización, apoptosis, funciones mitocondriales y translocación de proteínas a través de la membrana. En los protozoos del filo *Apicomplexa*, se ha demostrado que las serina proteasas romboidales clivan ciertas adhesinas de superficie facilitando el ingreso de los parásitos a las células hospedadoras. El objetivo de este trabajo ha sido identificar las peptidasas romboidales en distintas especies de los géneros *Babesia* y *Theileria* que pertenecen al orden *Piroplasmida*. Para ello se realizó una búsqueda bioinformática en las bases de datos GenBank, MEROPS y PiroplasmaDB de secuencias romboidales predichas en los genomas secuenciados de cuatro especies de *Theileria sp.* y tres especies de *Babesia sp.*, tomando como referencia la secuencia de *Plasmodium falciparum* descrita para cada subfamilia de romboidales. Se encontraron 37 secuencias, de las cuales 24 fueron predichas como funcionales: 3 en los genomas de *T. annulata*, *T. parva* y *T. orientalis*, 1 en *T. equi*, 7 en *Babesia bovis*, 4 en *B. bigemina* y 3 en *B. microti*, las cuales pudieron ubicarse de manera preliminar en las subfamilias ROM1, ROM4/5, ROM6, ROM7, ROM8 y ROM9. Varias de ellas son ortólogas entre dos o más especies y en el caso de ROM6 se observó ortología entre todos los Piroplasmidos estudiados. De particular interés son las ROM4/5, que han sido descritas como candidatos vacunales para el apicomplejo *Eimeria tenella*. En *P. falciparum* existe un único gen ROM4/5, pero su ortólogo en *B. bovis* se ha extendido a una familia de tres parálogos ubicados en tándem. Futuros estudios estarán concentrados en dilucidar el rol funcional de estas proteínas. Financiado por INTA PNBIO 1131034 y PICT 2013-1249.

IyP8- CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS CANDIDATOS VACUNALES CONTRA LA BABESIOSIS BOVINA

Daniela A Flores, Anabel E Rodriguez, Mónica Florin-Christensen, Leonhard Schnittger.

Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA Castelar. E-mail: flores.daniela@inta.gob.ar

Babesia bovis es un protozoo hemoparásito transmitido por garrapatas que provoca grandes pérdidas económicas para la ganadería de regiones cálidas. El objetivo general de esta investigación es el desarrollo de una vacuna a subunidades para la babesiosis bovina que pueda superar las desventajas de las vacunas vivas actualmente utilizadas. Para ello, nos hemos enfocado en la caracterización de antígenos de *B. bovis* anclados a la superficie por puentes glicosilfosfatidilinositol (GPI), como posibles candidatos para formulaciones vacunales. Previamente, a partir del proteoma de *B. bovis* se predijeron proteínas ancladas por GPI, de las cuales se seleccionaron tres anotadas como hipotéticas en el GenBank, y a las que se denominaron GPI1, GPI2 y GPI3. Se amplificaron los marcos abiertos de lectura de los tres genes correspondientes mediante PCR, utilizando como templado ADN genómico de aislamientos del parásito provenientes de Argentina, Brasil, Estados Unidos, México y Australia, y se obtuvieron las secuencias nucleotídicas por secuenciación directa. Mediante herramientas bioinformáticas, se determinó el grado de polimorfismo de cada proteína predicha, presentando porcentajes de identidad >90%. También se predijeron 9, 17 y 6 epitopes B en GPI 1, 2 y 3, respectivamente. Se expresó una forma recombinante de GPI 2 (GPI 2r) en un sistema procariota, y se corroboró por Western blot la presencia de anticuerpos específicos contra esta proteína en sueros de bovinos infectados con *B. bovis*. Por otro lado, se produjo un antisuero murino contra GPI 2r, el cual fue utilizado en una inmunofluorescencia indirecta, demostrándose la expresión de la proteína nativa en el estadio merozoito. De la misma manera, se están caracterizando las proteínas GPI 1 y 3. Estos resultados preliminares son promisorios para la selección de nuevos candidatos vacunales contra la babesiosis bovina. Financiado por INTA PNBIO 1131034 y PICT 2010-0438.

IyP9-CO3- ACTIVATION OF DENDRITIC CELLS BY GIARDIA VARIANT-SPECIFIC SURFACE PROTEINS (VSP) AND VSP-PSEUDOTYPED VIRUS-LIKE PARTICLES

Lucía L. Rupil, Marianela C. Serradell, Román A. Martino, Pablo R. Gargantini, Hugo D. Luján.

Center for Research and Development in Immunology and Infectious Diseases (CONICET), Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, School of Medicine, Catholic University of Cordoba. Cordoba. Argentina. E-mail: marianelaserradell@gmail.com

It has been shown that *Giardia lamblia* variable surface antigens (VSPs) have a remarkable intrinsic immunogenicity and are capable to resist the harsh conditions of the gastrointestinal tract. In addition, significant progress has been made regarding the use of vaccines composed of Virus-like Particles (VLPs), indicating the strong capability of particulate vaccines to enhance systemic immune responses. Our hypothesis is that an efficient oral vaccine platform can be generated by combining the benefits of *Giardia* VSPs as protective agents with the advantages of VLPs as efficient immunogens. We

therefore developed fluorescent VSP-enveloped VLPs (pseudotyping) for oral immunization of heterologous antigens (oVLPs). Since dendritic cells (DCs) are the main players between the innate and the adaptive immunity and are required for initiation of T cell-mediated responses, their interaction with VSPs and oVLPs was evaluated. Bone marrow DCs from C57Bl/6 mice were stimulated with either recombinant VSP1267, naked (nVLPs) or VSP1267-pseudotyped oVLPs. Expression of different cell activation parameters, such as CD40, CD86, many cytokines and nitric oxide production were tested. When oVLPs and nVLPs were compared, the VSP-pseudotyped VLPs showed an increased stimulatory capacity, with higher levels in expression of co-stimulatory molecules, enhanced production of IL-4, IL-6, IL-10, TNF and nitric oxide, as well as a higher VLP uptake, indicating that the presence of VSP improved VLP immunogenicity. In turn, VSP1267 alone was also able to increase CD40 and CD86 levels, but only induced a slight increase of TNF. Thus, although VSPs show immunostimulating properties, these capabilities were strongly improved when these proteins were covering the VLPs. Further characterization of VSPs and oVLPs will contribute to the use of these molecules as mucosal adjuvants for the production of vaccines to be administered orally.

IyP10- NOVEL ORAL VACCINE BASED ON THE FULL REPERTOIRE OF *GIARDIA* VSPs PREVENTS ESTABLISHMENT OF INFECTION AND REDUCES CHRONIC GIARDIASIS IN DOMESTIC ANIMALS

Marianela C Serradell⁽¹⁾, Alicia Saura⁽²⁾, Lucía L Rupil⁽²⁾, Pablo R Gargantini⁽²⁾, Marcela I Faya⁽³⁾, Paulina J Furlan⁽³⁾, Hugo D Luján⁽²⁾.

⁽¹⁾Center for Research and Development in Immunology and Infectious Diseases (CONICET). Cordoba. Argentina. ⁽²⁾Center for Research and Development in Immunology and Infectious Diseases (CONICET), Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, School of Medicine, Catholic University of Cordoba. Cordoba Argentina. ⁽³⁾School of Veterinary, Catholic University of Cordoba. Cordoba. Argentina. E-mail: marianelaserradell@gmail.com

Giardia lamblia is an intestinal parasite of humans and one of the most common enteric parasites of domestic animals, including cats, dogs, and cattle. Clinical manifestations of giardiasis, such as acute or chronic diarrhea, anorexia, weight loss and lethargy, have been associated with *Giardia* infections in both domestic and farm animals. A few anti-parasitic drugs are used to treat giardiasis, but re-infections are common and drug resistant strains have already been reported. Unfortunately, efficient vaccines against *Giardia* are not available. *Giardia* undergoes antigenic variation, a mechanism that allows parasites to evade the host's immune response. Antigenic variation is characterized by the continuous switching in expression of a family of homologous genes encoding surface antigens. Recently, we found that the mechanism controlling variant-specific surface proteins (VSPs) switching in *Giardia* involves components of the RNA interference (RNAi) pathway. Only one VSP, from a repertoire of ~200 VSP genes, is expressed on the surface of individual trophozoites, but disruption of the RNAi machinery generates trophozoites expressing the entire repertoire of VSPs. We previously demonstrated that oral immunization of gerbils with VSPs isolated from these altered parasites shows high levels of protection, clearly indicating that targeting the entire repertoire of surface antigenic variants is an effective approach to prevent infections. In this work, we tested this vaccine in cats and dogs, demonstrating that it is highly efficient in preventing new infections and in alleviating chronic giardiasis in both experimentally and naturally acquired animal infections. Remarkably, vaccination of dogs in a hyperendemic shanty town decreased the level of *Giardia* infections in children living in the community, clearly indicating that vaccination of domestic animals also prevents the zoonotic transmission of the parasite to humans.

IyP11- VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA INTERACCIÓN *TRYPANOSOMA CRUZI*-CÉLULA DENDRÍTICA

María E Ancarola⁽¹⁾, Antonio Marcilla⁽²⁾, Mara Rosenzvit⁽¹⁾, Stella González Cappa⁽¹⁾, Marcela Cucher⁽¹⁾, Carolina Poncini⁽¹⁾.

⁽¹⁾ IMPaM, Universidad de Buenos Aires. ⁽²⁾ Departamento de Biología Celular y Parasitología, Universidad de Valencia. E-mail: meancarola@gmail.com

Trabajos previos demuestran que *T. cruzi* altera la funcionalidad de células presentadoras de antígeno (CPAs) in vitro e in vivo. Estudios más recientes proponen que la modulación de la funcionalidad de células dendríticas (CDs) por *T. cruzi* es independiente de su infección (Poncini 2008, 2010). La comunicación mediante vesículas extracelulares (VEs) juega un papel fundamental en la regulación de procesos celulares, siendo las VEs consideradas importantes como vehículo de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. En patógenos, se ha demostrado la liberación de VEs en bacterias, hongos, protozoarios y helmintos (Marcilla 2014). En relación a *T. cruzi*, previamente se caracterizó la liberación y la composición de VEs parasitarias. Particularmente en protozoarios del género *Leishmania* se observó que VEs interaccionan con células del hospedero, inmunomodulando CPAs. El siguiente trabajo plantea analizar el efecto de *T. cruzi* en la liberación de VEs por CDs, describir su composición y su impacto sobre la regulación de la respuesta inmune del hospedero. Estudios de interacción célula-parásito, permitieron determinar por microscopía electrónica de transmisión la presencia de VEs de diversos tamaños (20-300 nm) en sobrenadantes de co-cultivo de CDs y tripomastigotes. Asimismo, se determinó la presencia de proteínas por SDS-PAGE y de ARN intravesicular por electroforesis capilar (en chip). Este último, presentó un perfil de tamaños compatible con ARN pequeño (20-300 nt). Resultados preliminares, demostraron que el tratamiento de ratones con VEs derivadas de la interacción CDs-parásito, y no las provenientes del parásito, confiere 100% de protección

ante el desafío letal con la infección con *T. cruzi*. Profundizar los estudios celulares en relación a *T. cruzi* y su interacción con el hospedero permitirá el diseño de estrategias racionales para el control de la infección

IyP12- EVALUACIÓN DE LA CARDIOPATÍA EN RATONES CARENTES DE GALECTINA-3 INFECTADOS CON DISTINTAS UDT DE TRYPANOSOMA CRUZI

Carla A. Pascuale⁽¹⁾, María F. Ferrer⁽²⁾, Ricardo M. Gomez⁽²⁾, María S. Leguizamón⁽¹⁾.

⁽¹⁾IIB-UNSAM-CONICET. ⁽²⁾IBMyB-UNLP-CONICET. E-mail: carlapascuale@gmail.com

Las galectinas (Gals) pueden participar tanto en procesos patológicos como homeostáticos. En particular, la Gal-3 ha sido relacionada con falla cardíaca, activación de fibroblastos, remodelación de la MEC, etc. Fue propuesta como marcador de falla cardíaca para humanos. Nos propusimos evaluar la cardiopatía inducida en ratones C57BL/6J (B6) y B6Gal-3KO utilizando parásitos pertenecientes a las UDT I y UDT VI. Infectamos ratones con la cepa Ac (UDT I) de *T. cruzi* que induce infección crónica. Los valores de parasitemia (PM) y supervivencia (90%) fueron semejantes entre ambos grupos. A los 3 meses *pi* se sacrificaron y en los corazones se analizó inflamación (Hematoxilina/Eosina), fibrosis (tinción con Sirius Red) y expresión de pro-Colágeno-I y alfa-Sma por qRT-PCR. El grado de inflamación fue de grado mínimo. No encontramos diferencias significativas entre los grupos infectados. La evaluación por qPCR de la carga parasitaria mostró ser significativamente mayor ($p < 0.01$) en los B6Gal-3KO. También analizamos corazones de ratones B6 y B6Gal-3KO infectados con una cepa letal (100%) (RA, UDT VI), sacrificados entre los 25-30 dpi. Analizamos los parámetros antes mencionados (con excepción de carga parasitaria) las diferencias no fueron significativas entre los grupos. Los valores de PM y mortalidad fueron semejantes. Los resultados obtenidos podrían estar relacionados con la menor susceptibilidad de los ratones B6, ya que Ac induce mayor inflamación y fibrosis en ratones CF1. La ausencia de Gal-3 indujo mayor carga parasitaria en los tejidos. En relación a la infección con RA, los resultados podrían estar relacionados con la evolución aguda del modelo, que no permite una evaluación a mayor tiempo *pi*.

IyP13- ESTUDIOS DE LA ADHESIÓN DE CÉLULAS DE MÉDULA ÓSEA (CMMO) DE RATONES C57/BL INFECTADOS CON TRYPANOSOMA CRUZI EN FORMA CRÓNICA A LA MATRIZ EXTRACELULAR

Carlos A. Pravia⁽¹⁾, Andrés M. Ruiz^(1,2), Alicia G. Fuchs⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben". ⁽²⁾CONICET. E-mail: capravia@gmail.com

Aproximadamente el 30 % de los pacientes con Chagas desarrolla cardiomiopatía, caracterizada por necrosis celular, fibrosis con depósito de colágeno I y redistribución de la fibronectina y la laminina. El trasplante autólogo de CMMO ha sido propuesto para su tratamiento, pero su éxito puede depender de la capacidad de adhesión de las CMMO. Hemos realizado estudios previos que demuestran una disminución de la expresión de la integrina $\beta 1$ en CMMO y en el bazo de animales infectados, aun estimulando con PMA. En este trabajo hemos estudiado la funcionalidad de las CMMO *in vitro* adhiriéndolas a matrices extracelulares (ECM) y fibronectina. Las CMMO fueron extraídas de ratones C57/Bl machos, infectados (50 tripomastigotes ip) y controles a los seis meses post-infección e incubadas con y sin PMA (10ng/ml). Las ECM se obtuvieron de cultivos de células Vero infectados con *T. cruzi* y controles, descelularizándose por hipósmosis, congelamiento y descongelamiento. También se utilizaron pocillos recubiertos con fibronectina (50ng/pocillo) y bloqueados con BSA. Se colocaron 4×10^4 células/pocillo ($n=10$), se incubaron 1h y luego se lavaron con PBS, se fijaron y tiñeron con May Grünwald-Giemsa. Se registro el número de células adheridas/campo (10 campos/pocillo) a 40x. La significación estadística se evaluó por el *Test t*. Las CMMO adheridas a ECM control (ECMc) fue de $3,3 \pm 1,41$ (infectados) y $5,3 \pm 1,61$ (control), $p < 0,05$ (n° de células \pm SD). En ECM infectada (ECMi) las CMMO PMA+ adheridas fueron $11,4 \pm 6,42$ (control) y $5,5 \pm 2,46$ (infectados), $p < 0,05$. El PMA aumenta la adhesión de las CMMO control solamente sobre ECMc. La adhesión de CMMO control a ECMc y ECMi fue, respectivamente, $5,3 \pm 1,62$ y $3,4 \pm 1,50$, $p < 0,05$. Sobre fibronectina, las CMMO de ratones infectados se adhirieron $9,97 \pm 1,85$ y las CMMO control $21,13 \pm 4,13$, $p < 0,05$. La infección con *T. cruzi* disminuye la adhesión de las CMMO por dos mecanismos: una posible disminución de la integrina $\beta 1\alpha 4$ y por alteraciones producidas sobre la ECM.

IyP14-CO7- ESTRATEGIAS DE INMUNIZACIÓN "PRIME – BOOST" EN RATONES COMBINANDO VECTORES VIRALES NO REPLICATIVOS QUE EXPRESAN UN MULTIAANTÍGENO CONTRA BABESIA BOVIS

José M. Jaramillo Ortiz, Martina S Paoletta, María P Molinari, María J Gravisaco, María P Del Médico, Silvina E Wilkowsky.

Laboratorio de Hemoparásitos. CICVyA- INTA, Castelar. E-mail: pepuspepii@gmail.com

La babesiosis bovina causada por *Babesia bovis*, genera una importante mortalidad en el ganado del norte argentino. La vacunación con cepas atenuadas de este protozoario, es protectora pero presenta desventajas relacionadas con su bioseguridad y almacenamiento. La vacunación con los vectores virales atenuados como el virus de vaccinia Ankara modificado (MVA) y el Adenovirus humano (Adh) han sido evaluados con éxito contra enfermedades humanas y de interés

veterinario en estrategias de inmunización "prime – boost". El objetivo de este trabajo fue mejorar la capacidad inmunogénica en el modelo murino, utilizando un MVA que fue previamente obtenido y evaluado en nuestro laboratorio, combinándolo con un Adh. Ambos vectores recombinantes expresan un multiantígeno (denominado aquí rMABbo) de *B. bovis* formado por una fusión de fragmentos antigénicos de las proteínas MSA-2c, RAP-1 y HSP20 de *B. bovis*. Un grupo de ratones (n=5) fue inmunizado con 1x10⁹UFP/ratón de Adh y 28 días de la primera inmunización (dpi) recibió una dosis de 1x10⁷UFP/ratón de MVA. Otro grupo recibió 50 µg/ratón de la poliproteína (rMABbo) purificada y 28 dpi un boost de 1x10⁷ UFP/ratón de MVA. Como control, se inmunizó un grupo con 1x10⁹UFP/ratón de Adh-wt y 28 dpi recibió 1x10⁷UFP/ratón de MVA-wt. Otro grupo control recibió 50 µg/ratón de proteína heteróloga purificada y 28 dpi un boost de 1x10⁷ UFP/ratón de MVA. Otro grupo control recibió dos dosis de medio RPMI. A los 28 días de la segunda inmunización, se observaron por ELISA indirecto altos títulos de anticuerpos IgG en los dos grupos vacunados, siendo el grupo (Adh – MVA) el que presentó mayor relación IgG2a/IgG1 (sugere de una respuesta Th1). Además, este grupo presentó mayores niveles de IFN γ secretado y un elevado porcentaje de CD4+ - IFN γ + y CD8+ - IFN γ +. Futuros experimentos en bovinos que incluyan desafíos permitirán confirmar o no la utilidad de estas vacunas como nuevas estrategias de prevención para la babesiosis por *B. bovis*

IyP15- POTENCIAL LEISHMANICIDA DEL PÉPTIDO HLF1-11, DERIVADO DE LACTOFERRINA HUMANA

Agustina Casasco, Bruno Alliani, Fernanda M. Frank, Patricia B. Petray.

IMPaM. E-mail: aguscasasco@hotmail.com

La leishmaniasis está ampliamente dispersa en áreas tropicales/subtropicales del mundo, con un preocupante incremento de su incidencia en las últimas décadas. La terapia convencional, basada en el empleo de antimoniales pentavalentes, posee limitaciones relacionadas con la resistencia del parásito y la toxicidad. Esto ha llevado a promover el uso de péptidos con actividades antimicrobianas e inmunomoduladoras (PAM). Algunas de estas moléculas efectoras del sistema inmune innato han sido desarrolladas por la industria farmacéutica para uso clínico. El PAM hLF1-11, derivado de lactoferrina humana, demostró ser altamente eficaz contra infecciones bacterianas y fúngicas en ensayos en Fase I/II aún en aplicaciones tópicas. Dado su poder microbicida y su capacidad para estimular fagocitos, nos propusimos probar su efectividad *in vitro* frente a la infección con *Leishmania*. Para ello, empleamos macrófagos peritoneales de ratón CF1 (M ϕ , 1 x 10⁶/ml) infectados por 4 h con promastigotes de *L. amazonensis* (1:5). El péptido sintético hLF1-11 (100 µg/ml) fue administrado previamente a la infección (pre-tto), o inmediatamente después de la misma (pos-tto). Se incluyeron controles sin tratar (C). Luego de 72 h, las células fueron teñidas con Giemsa y se evaluó por microscopía el N $^{\circ}$ de amastigotes /100 M ϕ y el % de M ϕ infectados. Los sobrenadantes de cultivo fueron cosechados para cuantificación de óxido nítrico mediante reacción de Griess. La administración de hLF1-11 provocó una reducción en el N $^{\circ}$ de amastigotes intracelulares respecto al C, tanto en los cultivos que recibieron pre-tto (p<0,001) como pos-tto (p<0,0001). En ambos casos se verificó una disminución en el % M ϕ infectados (pre-tto: p<0,05; pos-tto: p< 0,0001). La cuantificación de nitritos permitió observar que hLF1-11 provocó una modulación de la producción de óxido nítrico por los M ϕ . Concluimos que hLF1-11 podría constituir un nuevo recurso terapéutico con potencial promisorio sobre la infección con *Leishmania*.

IyP16- EVALUACIÓN DE REGIONES DE LA CRUZIPAÍNA Y TRANS-SIALIDASA PARA SU USO EN VACUNAS DE SUBUNIDADES CONTRA INFECCIONES POR TRIPANOSOMA CRUZI

Estefanía Prochetto⁽¹⁾, Daiana Bertona⁽¹⁾, Iván Bontempi⁽¹⁾, María de los Milagros Burgi Fissolo⁽²⁾, Miguel Vicco⁽¹⁾, Luz Rodeles⁽¹⁾, Luz Peverengo⁽¹⁾, Iván Marcipar⁽¹⁾, Gabriel Cabrera⁽¹⁾

⁽¹⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica, FBCB, UNL, Santa Fe. ⁽²⁾Laboratorio de cultivos celulares, FBCB, UNL, Santa Fe. E-mail: estefiprochetto@hotmail.com

Previamente hemos descrito la inmunoprotección brindada por las proteínas trans-sialidasa (TS) y cruzipaína (Cz) de *T. cruzi* al ser formuladas con el adyuvante comercial ISCOMATRIX o con uno desarrollado por nuestro grupo basado en liposomas y QuilA (ISPA). Una característica común a todos los sistemas de expresión heteróloga es la dificultad para expresar proteínas de gran tamaño con un plegado correcto. Con el fin de identificar regiones antigénicas que puedan ser expresadas en diferentes sistemas, nos propusimos evaluar la inmunoprotección brindada por fracciones de la TS y Cz. Para ambas proteínas se seleccionaron fragmentos menores a 35kDa en base a información bibliográfica y predicción bioinformática. Para la TS, se seleccionó un fragmento de ADN de 884 pb, y para la Cz se obtuvo un fragmento de 720 pb. Estos antígenos se expresaron en el sistema pET28a/E coli BL21-DE3 y se purificaron usando columnas de Niquel. Se inmunizaron ratones 3 veces cada 15 días con 10 µg de TS o Cz formulados con 5 µg de adyuvante liposomal ISPA o PBS como control. Las inmunizaciones aumentaron los niveles séricos de anticuerpos IgG específicos contra TS o Cz. (DO \pm DS, n=5 por grupo) PBS: 0,05 \pm 0,01; CZ: 1,90 \pm 0,25, TS: 1,44 \pm 0,39, p <0,05. Además, tanto la TS como la Cz generaron mayores niveles de anticuerpos IgG2a con respecto a IgG1; (DO \pm DS, n=5): PBS: IgG1: 0,06 \pm 0,01 vs IgG2a: 0,15 \pm 0,11, p>0,05; CZ: IgG1: 0,76 \pm 0,22 vs IgG2a: 2,15 \pm 0,51, p <0,05; TS: IgG1: 0,42 \pm 0,17 vs IgG2a: 1,82 \pm 0,59, p<0,05. Luego de la última inmunización, los ratones fueron desafiados con mil tripomastigotes (Tulahuen). Aunque aún no se alcanzó significación estadística, las fracciones de TS y Cz mostraron capacidad protectora (supervivencia después del desafío: PBS = 60%; TS y Cz, 100%),

aunque solo la TS disminuyó la parasitemia. Todos los ensayos se realizaron 2 veces con resultados similares. Estos datos muestran que ambas fracciones son promisorias para adecuarse a otros sistemas de expresión.

IyP17-CO7- MITOCONDRIAS DE MÚSCULO ESQUELÉTICO Y FRACCIÓN LINFOMONOCITARIA COMO MARCADORES DE DAÑO MIOCÁRDICO EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Alejandra L. Báez, María S. Lo Presti, María N. Reynoso, Paola C. Bazán, Mariana Strauss, Noemí Miller, Daniela A. Velazquez Lopez, Hector W. Rivarola, Patricia A. Paglini.

Centro de Estudios e Investigación de la enfermedad de Chagas y Leishmaniasis. Fac de Ciencias Médicas. U.N.C. Córdoba, Argentina. INICSA-CONICET. E-mail: alejandralidiab@hotmail.com.

Hemos demostrado en nuestro laboratorio que las mitocondrias del miocardio están involucradas en la fisiopatogenia y evolución de la Enfermedad de Chagas, resultando ser buenos marcadores de inicio y de las diferentes etapas y lesiones cardíacas. Dado que analizar mitocondrias en músculo cardíaco de pacientes resultaría inviable se decidió estudiar la actividad funcional de mitocondrias en músculo esquelético y en fracción linfomonocitaria de sangre en ratones infectados con *T. cruzi* en las diferentes etapas de la enfermedad. Se estudiaron entonces ratones albinos suizos infectados (n=30) con 50 tripomastigotes de *T. cruzi* del aislamiento SGO Z12 y la cepa Tulahuen, sobre la actividad enzimática de corazón (C), músculo esquelético (M) y población linfomonocitaria (L) en las etapas aguda (35 días post-infección) y crónica sin sintomatología y con sintomatología (75 y 365 días post-infección respectivamente). Un grupo no infectado (control, n=10) también se analizó. Se midió la actividad de citrato sintasa (CS) y del complejo III (CIII) por espectrofotometría. Los datos se analizaron por ANOVA (p<0.05). De acuerdo a los resultados obtenidos en la actividad enzimática ($\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}/\text{mg prot}$) se observó que la CS en C y en L se incrementó en Tulahuen a los 35 dpi; a los 75 dpi disminuyó en C y M para SGO Z12 y a los 365 dpi aumentó en C y M para ambas cepas (p<0.05). En el CIII en C se observó una disminución significativa en ambas cepas en todas las etapas, esto se correlacionó con lo que se observó en L a los 35 dpi para ambas cepas y a los 365 dpi se observó un incremento en M y L para SGO Z12 (p<0.05). Las alteraciones de la CS y del CIII se vieron desde la etapa aguda de la infección en M y L pudiendo utilizarse al músculo esquelético como marcador de alteraciones en la etapa crónica y a la población linfomonocitaria en la etapa aguda y crónica asintomática, de manera que ayude a tomar decisiones para frenar la evolución de la infección hacia la miocardiopatía chagásica.

IyP18- EVALUATION OF THE SMALL HEAT SHOCK PROTEIN-20 AS A NEW VACCINE CANDIDATE IN AN EXPERIMENTAL MURINE MODEL OF TOXOPLASMOSIS

Mariano S Picchi⁽¹⁾, Vanesa R Sánchez⁽¹⁾, Ignacio M Fenoy⁽²⁾, Nadia Arcón⁽¹⁾, Ariadna S Soto⁽¹⁾, Alejandra Goldman⁽⁶⁾, Valentina Martin⁽¹⁾.

⁽¹⁾CESyMA - ECyT - UNSAM. ⁽²⁾IBB-INTECH, Chascomús. E-mail: picchiomariano@gmail.com

The development of vaccines against *T. gondii* infection is a high priority, given the high rate of infection close to 30% of the world population. Currently, the only available commercial vaccine is Toxovax®, based on live attenuated tachyzoites, used in the United Kingdom, New Zealand, France and Ireland. The parasite surface chaperone Hsp20 appears as a possible candidate to be included in the development of a preventive vaccine against toxoplasmosis, since it was recognized for almost 80% of sera from seropositive individuals and also, anti-Hsp20 antibodies are able to block in vitro parasite motility and host cell invasion. In the present work we have studied the immuno-protective effect of a recombinant form of Hsp20 (rHsp20) in a mouse model of chronic *T. gondii* infection. CF1 mice were immunized 4 times every 15 days with rHsp20 (20 $\mu\text{g}/\text{dose}$) combined with Alum (0.5 mg/dose) and the formulation was administered intradermally (ID) or intramuscularly (IM). Both ID and IM vaccinations induced strong humoral responses characterized by high levels of IgG antibodies, showing a mixed TH1/TH2 profile in both experimental groups. In order to assess the immunoprotective value of this vaccine, two weeks after the vaccination schedule was completed, the immunized mice were challenged intragastrically with a non-lethal dose of tissue cysts of the ME49 *T. gondii* strain. One month after the challenge, rHsp20 ID immunized mice showed a significant reduction of 70% in the brain parasite burden compared to the control group, while the group immunized via IM route showed a tendency to decrease the parasite load (20 % reduction). These results demonstrate that Hsp20 would be a very good candidate to be included in a vaccine against toxoplasmosis given the high degree of protection observed in this mouse model.

IyP19- CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y BIOLÓGICA DE UNA CEPA DE TRYPANOSOMA CRUZI AISLADA DE UN PACIENTE CON INFECCIÓN CONGÉNITA

Julián E N Gulín⁽¹⁾, Margarita Bisio⁽¹⁾, Daniela M Rocco⁽¹⁾, Facundo García-Bournissen⁽¹⁾, María E Solana⁽²⁾, Jaime Altcheh⁽¹⁾.

⁽¹⁾Servicio de Parasitología y Chagas - Hospital Ricardo Güiterrez. ⁽²⁾Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM). E-mail: jgulin@fvvet.uba.ar

El aislamiento de poblaciones circulantes de *T. cruzi* en diferentes regiones y hospedadores demostró diversas características genéticas, inmunológicas y de sensibilidad a los fármacos. El objetivo de este trabajo es determinar las propiedades moleculares y biológicas más relevantes de un aislamiento obtenido de un caso congénito de enfermedad de Chagas, denominado VD. Mediante PCR dirigida a secuencias de genes nucleares se determinó que la cepa pertenece a la Unidad Discreta de Tipificación TcVI. Se estableció la sensibilidad in vitro a Benznidazol (BZ) y Nifurtimox (NFX), siendo la concentración lítica 50 (LC50) 6,19 μ M para BZ y 7,70 μ M para NFX y la concentración inhibitoria 50 (IC50) 0,24 μ M y 0,66 μ M, respectivamente. Se estudió el curso de la infección aguda en ratones hembra BALB/c infectadas con 500 tripomastigotes vía intraperitoneal (ip) y la respuesta al tratamiento con BZ y NFX (100 mg/kg/día; 20 días vía oral). El período prepatente fue 7,06 \pm 0,8 días post infección (dpi), mientras que el período patente fue de 12,35 \pm 4,34 días en los animales no tratados (NT; n=17); 2,88 \pm 2,29 días en los animales tratados con BZ (n=17) y 1,94 \pm 3,15 días en los tratados con NFX (n=17). La parasitemia máxima alcanzada en el grupo NT fue 1.540 \pm 850 \times 10³ tripomastigotes/mL, mientras que el tratamiento con BZ la redujo en un 88,4% y el NFX en un 93,5%. La sobrevivencia en el grupo NT fue de 5,88% y en los grupos tratados, de 100%. Finalizado el tratamiento, los animales sobrevivientes fueron inmunosuprimidos con ciclofosfamida (200 mg/kg) ip. La tasa de reactivación en el grupo NT fue de 100% (1/1); 66% (8/12) en el grupo tratado con BZ y 50% (6/12) en el grupo tratado con NFX. Estos resultados permiten definir al aislamiento estudiado como una cepa caracterizada y estandarizar modelos in vitro e in vivo de evaluación sistemática de nuevos compuestos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

Iyp20- TOXOPLASMA GONDII SERINE PROTEASE INHIBITOR-1: A POSSIBLE ROLE IN THE HOST CELL INVASION PROCESS

Vanessa R. Sánchez⁽¹⁾, Silvina S. Bogado⁽²⁾, Mariano S. Picchio⁽¹⁾, Ignacio M. Fenoy⁽²⁾, Nadia Arcón⁽¹⁾, Ariadna S. Soto⁽¹⁾, Alejandra Goldman⁽¹⁾, Valentina Martin⁽¹⁾.

⁽¹⁾Centro de Estudios en Salud y Medio Ambiente, ECyT - UNSAM. ⁽²⁾IIB-INTECH, UNSAM-CONICET. E-mail: sanchez.vanesa@gmail.com

Toxoplasma gondii is able to invade any nucleated cell from a variety of warm-blooded animals in a highly controlled process that involves multiple steps: motility, adhesion and active entry into the host cell. During these events, the protein contents of the secretory organelles are released sequentially and in a highly regulated way. Among them, several proteases have been described, although the molecular mechanism of their regulation has not been described yet. TgPI-1 is a serine protease inhibitor secreted from dense granules and is expressed during all parasite stages. Although its role in the pathogenesis remains unknown, we have previously demonstrated that passive transfer of anti-rTgPI-1 serum to naïve receptor mice was able to provide significant protection against parasite challenge. In this work we studied the possible implication of TgPI-1 in the host cell *T. gondii* invasion process. For this, RH tachyzoites were used to invade cultured Vero cells under different treatment conditions with anti-rTgPI-1 serum (PI) or with serum from naïve mice (Ctrl). Differential indirect immunofluorescence (IIF) was performed to distinguish attached tachyzoites to the host cell membrane from intracellular parasites. When tachyzoites were pre-incubated with sera and subsequently washed before infection of cells, the parasites treated with PI serum decreased their adhesion ability (20%) compare to control. When parasites and sera were added simultaneously to the cells, we observed a reduction in parasite entrance in the presence of PI serum (10%). Furthermore, when tachyzoites were pre-incubated with PI serum and put to invade cells without the subsequent washing, a significant reduction in the adhesion (37%) and the entry to the host cell (4%) was observed compare to Ctrl serum. These results show for the first time a possible role of *T. gondii* serine protease inhibitor-1 during the invasion process, at least in the steps of adhesion and entry into the host cell.

Iyp21- ROL DE LA EXPRESIÓN Y FUNCIONALIDAD DEL RECEPTOR DE IL-7 EN LA RESPUESTA CELULAR T PARA TRYPANOSOMA CRUZI EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA

M Ailén Natale⁽¹⁾, María G Alvarez⁽²⁾, Rodolfo Viotti⁽²⁾, Graciela Bertocchi⁽²⁾, Bruno Lococo⁽²⁾, Susana A Laucella⁽¹⁾, M Cecilia Albareda⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben. ⁽²⁾HIGA Eva Perón. E-mail: ailen.natale@gmail.com

Resultados previos mostraron una correlación negativa entre la funcionalidad de linfocitos T y la severidad de la enfermedad de Chagas crónica. La señalización a través del receptor de IL-7 es importante para el mantenimiento de los linfocitos T de memoria produciéndose una modulación diferencial de sus componentes luego de su activación; mientras que la cadena CD127 es regulada negativamente, la CD132 incrementa su expresión. Recientemente, hemos demostrado alteraciones en la vía de señalización de IL-7/IL-7R en linfocitos T totales de estos pacientes. En este trabajo exploramos si la respuesta celular específica para *T. cruzi* se relaciona con la expresión de los componentes y la funcionalidad del receptor de IL-7 en pacientes en distintos estadios de la enfermedad de Chagas crónica (n=30). Observamos una disminución en el porcentaje de células CD127+CD132+ en los linfocitos T CD4+ y CD8+ de memoria (CD45RA-) en los pacientes con menor

compromiso clínico. Independientemente del estadio clínico, los pacientes que mostraron respuesta celular positiva a un lisado de *T. cruzi* mediante ELISPOT para IFN- γ /IL-2, presentaron más frecuentemente un bajo porcentaje de células CD127+CD132+ en la población de linfocitos T CD4+CD45RA- (42%), en comparación a los pacientes con respuesta negativa (10%), mostrando que los pacientes respondedores tienen capacidad de modular la expresión del IL-7R. La falta de respuesta celular *T. cruzi*-específica en los pacientes con sintomatología cardíaca se relacionó con una baja capacidad funcional del receptor de IL-7 en los linfocitos T CD4+ y CD8+, medida a través de la fosforilación de STAT5 y la expresión de CD25, ante la estimulación con IL-7 in vitro. Asimismo, los pacientes no respondedores mostraron un menor nivel de linfocitos T CD4+ y CD8+ naïve. Estos resultados sustentan un posible rol de la vía de señalización del receptor de la IL-7 en el mantenimiento de linfocitos T específicos para el parásito a lo largo de la infección.

IyP22- RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES SÉRICOS DE IgG TOTAL Y SUS SUBTIPOS (IgG1-IgG2) Y PRESENCIA DE DISTOMATOSIS EN BOVINOS CON HIDATIDOSIS

Pamela Méndez, Karen Strull, Edgar Jiménez, Felipe Correa, Caroll Stoore, Rodolfo Paredes.

Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. E-mail: pame.mendez@hotmail.com

Introducción: La hidatidosis es una enfermedad provocada por el metacéstodo de *Echinococcus granulosus* (EG). Inmunoglobulina G (IgG) y sus subtipos IgG1 e IgG2 juegan un rol importante en la protección contra EG en las etapas iniciales de infección y en la formación de anticuerpos específicos que podrían generar una respuesta inmune protectora contra el parásito. Distomatosis es una enfermedad con alta incidencia en ganado bovino, por lo que es necesario evaluar si su presencia concomitante con hidatidosis afecta los niveles séricos de IgG total, IgG1 e IgG2 (IgGs). Objetivo: Determinar la relación entre los niveles séricos de IgGs y la presencia de distomatosis en bovinos con hidatidosis. Resultados: Se obtuvieron un total de 168 muestras de sangre de bovinos faenados cuyas vísceras fueron inspeccionadas para evaluar la presencia de hidatidosis. Los niveles séricos de IgGs fueron determinados con Bovine IgG, IgG1 y IgG2 ELISA Quantition Set (Bethyl Laboratories™). Para el diagnóstico serológico de distomatosis se usó Bio-X *Fasciola hepatica* ELISA Kit, generando los siguientes grupos: animales negativos a ambas parasitosis (N); sólo hidatidosis (H), sólo distomatosis (D), hidatidosis y distomatosis (HD). La media de los niveles séricos de IgG total en animales N y D fueron 26,6 y 37,9 mg/ml respectivamente, aumentando significativamente ($p < 0,05$) a 41,2 y 42,4 mg/ml en animales H y HD. Los niveles de IgG1 se presentaron similares en animales N, D y H (6,3-6,7 mg/ml) aumentando a 13,1 mg/ml ($p < 0,05$) en el grupo HD. IgG2 en tanto, presentó valores similares entre todos los grupos (12,9 - 14,2 mg/ml). Conclusión: Las concentraciones de IgG total aumentaron en animales con hidatidosis (H y HD), sin verse afectados por la co-infección con distomatosis. Sin embargo la coinfección entre hidatidosis y distomatosis mostró un incremento específico de los niveles de IgG1 por lo que participaría en la modulación de la respuesta inmune. Proyecto Fondecyt/Chile n° 1130717.

IyP23- ESTANDARIZACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE IL-4 E IFN- γ EN BOVINOS CON HIDATIDOSIS CO-INFECTADOS CON DISTOMATOSIS

Felipe Correa⁽¹⁾, Pamela Méndez⁽¹⁾, Karen Strull⁽¹⁾, Edgar Jiménez⁽¹⁾, Christian Hidalgo⁽¹⁾, Caroll Stoore⁽¹⁾, Marcela Hernández⁽²⁾, Rodolfo Paredes⁽¹⁾.

⁽¹⁾Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

⁽²⁾Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile. E-mail: felipe2983@gmail.com

Introducción: *Echinococcus granulosus* es un parásito céstodo que afecta cánidos, seres humanos y animales ungulados. Se ha sugerido que en infecciones por éste parásito co-existe un patrón de citoquinas Th1-Th2. Sin embargo, no se encuentran reportes que revelen el efecto de co-infecciones parasitarias, como distomatosis, en el patrón de citoquinas circulantes de estos bovinos. El objetivo del presente estudio fue estandarizar la concentración de IL-4 (Th2) e IFN- γ (Th1) en bovinos con hidatidosis y co-infectados con distomatosis. Resultados: Se obtuvieron muestras de suero sanguíneo de 10 bovinos previo a ser faenados (5 con hidatidosis y 5 con hidatidosis y distomatosis) diagnosticados a través de visualización directa de ambos parásitos en la cadena de faena, siendo que ambos grupos tenían igual número de animales con quistes fértiles e infértiles. Las muestras fueron analizadas en duplicado a través de un MULTIPLEX (EMD Millipore) para determinar la concentración de IL-4 e IFN- γ . La concentración de IL-4 en bovinos sólo con hidatidosis ($51,05 \pm 28,87$ ng/mL) fue inferior ($p < 0,05$) en relación a los animales con hidatidosis y distomatosis ($230 \pm 15,55$ ng/mL), sugiriendo que la co-infección con distomatosis sería un factor que influenciaría la concentración de IL-4 en bovinos con hidatidosis. Al comparar a los animales con hidatidosis y quistes fértiles ($33,01 \pm 2,01$ ng/mL) con los afectados por hidatidosis y quistes infértiles ($44,68 \pm 18,20$ ng/mL), no se observan diferencias en la concentración de IL-4, por lo que el estado de fertilidad del quiste no sería un factor relevante en la concentración de IL-4 en bovinos con hidatidosis. Además, la concentración de IFN- γ fue inferior al umbral de detección del kit, lo que podría explicarse dado que la presencia de IL-4 disminuye la producción de

IFN- γ . Conclusión: La co-infección con distomatosis sería un factor modulador de la concentración de IL-4 sérica en bovinos con hidatidosis. Proyecto Fondecyt/Chile n° 1130717.

IyP24- LA PROTEÍNA HSP83 DE LEISHMANIA INFANTUM USADA COMO CARRIER MEJORA LA EXPRESIÓN DEL ANTÍGENO SAG1 DE TOXOPLASMA GONDII EN PLANTAS

Romina M. Albarracin⁽¹⁾, Melina Laguía Becher⁽²⁾, Inmaculada Farran⁽³⁾, Valeria A. Sander⁽¹⁾, Mariana G. Corigliano⁽¹⁾, María L. Yácono⁽¹⁾, Sebastián Pariani⁽¹⁾, Edwin Sánchez López⁽¹⁾, Jon Veramendi⁽³⁾, Marina Clemente⁽¹⁾.

⁽¹⁾IIB-INTECH (CONICET-UNSAM). ⁽²⁾Instituto de Ciencia y Tecnología "Dr. Cesar Milstein", CONICET-Fundación Pablo Cassara. ⁽³⁾Instituto de Agrobiotecnología, Universidad Pública de Navarra-CSIC. E-mail: ralbarracin@intech.gov.ar

SAG1 es el principal antígeno de superficie del parásito intracelular *Toxoplasma gondii*, que ha sido propuesto como uno de los principales candidatos para el desarrollo de una vacuna anti *T. gondii*. En este sentido es que se han realizado grandes esfuerzos por expresar este antígeno en diferentes sistemas heterólogos, que en la mayoría de los casos resultaron en bajos niveles de expresión y baja antigenicidad de la proteína recombinante. En el presente trabajo nos propusimos explorar la tecnología de transformación de cloroplastos con el objeto de optimizar la expresión SAG1 en plantas. Además, con el propósito de mejorar la expresión de SAG1 en cloroplastos, se expresó la proteína de choque térmico de 83kDa de *Leishmania infantum* (LiHsp83) como carrier del antígeno SAG1. Los niveles de SAG1 en plantas fue entre 0,1-0,2 $\mu\text{g/g}$ de peso fresco (PF). Por su parte, la fusión de SAG1 a LiHsp83 incrementó significativamente los niveles de expresión de SAG1 en cloroplasto ($\sim 100 \mu\text{g/g}$ de PF). Además, se evaluó la funcionalidad de la proteína fusión LiHsp83-SAG1. Tres sueros seropositivos de pacientes reaccionaron contra la proteína SAG1 presente en plantas que expresaban la proteína de fusión LiHsp83-SAG1. Asimismo, las inmunizaciones orales de ratones C57 utilizando extractos de plantas que expresaban LiHsp83-SAG1 redujeron significativamente el número de quistes, que correlacionó con un aumento en los niveles de anticuerpos específicos anti-SAG1. Es por estos resultados que proponemos que la fusión de proteínas foráneas a la proteína LiHsp83 de *L. infantum* como una estrategia novedosa para incrementar los niveles de expresión de proteínas recombinantes expresadas en cloroplastos, proporcionando una alternativa a las dificultades que presenta la expresión de un antígeno en sistemas heterólogos de plantas.

IyP25- EVALUACIÓN DE IL4 E IFN γ EN LA CAPA ADVENTICIA DE QUISTES HIDATÍDICOS BOVINOS

Edgar Jiménez, Caroll Stooze, Pamela Méndez, Karen Strull, Felipe Correa, Ivan Contreras, Carlos González, Rodolfo Paredes.

Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. Santiago, Chile. E-mail: mauriciojimenezmvz05@gmail.com.

Introducción: La hidatidosis es una enfermedad infecciosa causada por el metacestodo de *Echinococcus granulosus*. Los quistes hidatídicos (QH) pueden ser fértiles (QF) o infértiles (QI) según su capacidad de producir protoescolices (PSC), la causa de esto no está clara y podría relacionarse a una respuesta inmune montada por hospedero. En humanos se han correlacionado los niveles de IFN- γ e IL-4 con la progresión de la enfermedad y se ha observado que las co-infecciones por helmintos influyen en el perfil inmunológico. Objetivo: Relacionar los niveles IL4 e IFN γ in situ con la fertilidad de los quistes y una posible modulación generada por distomatosis hepática (DH). Resultados: QH se obtuvieron de hígados y pulmones de bovinos con DH (D+) y sin DH (D-) beneficiados en Santiago de Chile. Las muestras fueron procesadas, incluidas en parafina y cortadas a 5 μm para evaluar IL4 e IFN- γ a través de inmunohistoquímica. La cuantificación de la marca se realizó con ImmunoRatio®, expresándose como % células marcadas del total de células. Para IL-4 los QF D- presentaron una marca de 30%, disminuyendo a un 14,7% con D+, al igual que en QI mostrando una marca de 11% en D- y 0,8% en D+. En QF IFN γ tuvo una marcación de un 20,9% en animales D- y un 14,8 con D+. En QI en cambio, la presencia de D+ en la marca de IFN γ se comportó de manera distinta que en QF, subiendo de 14,2% en D- a un 20,8% en D+. En la pared de QF ambas citoquinas tuvieron un patrón de distribución similar, marcando en PSC, capa germinal y adventicia. En QI IFN γ mostró una mayor señal en la adventicia, mientras que IL-4 tuvo una señal débil o no existente. Conclusión: El patrón de expresión de estas citoquinas in situ fue distintos dependiendo de la fertilidad de los quistes, relacionándose a una mayor expresión de IL-4 en QF. D+ podría estar modulando la respuesta a los quistes, observando una baja en IL-4 y aumento IFN γ en QI. Proyecto Fondecyt/Chile n° 1130717.

IyP26- BAJA DOSIS DE BENZNIDAZOL PROMUEVE LA ELIMINACIÓN DE PARÁSITOS Y ATENÚA LA REACCIÓN INFLAMATORIA EN UN MODELO DE CHAGAS EXPERIMENTAL

Agata C. Cevey, Gerardo A. Mirkin, Federico N. Penas, Nora B. Goren.

Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM). E-mail: agatacevey@gmail.com

La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi* (Tc), es la causa de miocardiopatía infecciosa más frecuente del mundo. El tratamiento antiparasitario en nuestro país recae en Benznidazol (Bz), dada la falta de Nifurtimox. Ambos inducen efectos adversos de variada severidad en muchos pacientes, que pueden llevar al abandono del tratamiento. Dado que la mayoría de los efectos adversos producidos por Bz están relacionados con la dosis, hemos decidido estudiar la eficacia de Bz en términos de actividad parasiticida y antiinflamatoria, usando dosis más bajas que las previamente reportadas. Para ello, ratones BALB/c infectados con la cepa letal RA de Tc fueron tratados con distintas dosis de Bz. Se estudió la parasitemia, mortalidad y el cambio en el peso. La carga parasitaria, la presencia de infiltrado y mediadores inflamatorios fueron evaluados en el corazón, y la actividad sérica de Creatinina Kinasa (CK) como marcador de daño. Las propiedades antiinflamatorias del Bz independientes de la infección, fueron estudiadas en un modelo in vitro de miocardiocitos estimulados con LPS. Observamos que el tratamiento in vivo con 25 mg/Kg/día de Bz torna los parámetros parasitológicos en negativos, disminuye significativamente IL-1 β , IL-6 y NOS2 en corazón y reduce la actividad de CK a niveles normales. Además, no se observa mortalidad en los ratones infectados y tratados. Cultivos primarios de miocardiocitos tratados con Bz (15 μ M) muestran que los mediadores inflamatorios son reducidos a través de la inhibición de la vía de NF- κ B. Nuestros hallazgos demuestran que una dosis de Bz más baja que las reportadas hasta el momento para el tratamiento de esta patología, ejerce adecuadamente efectos antiparasitarios y antiinflamatorios, llevando a la eliminación de los parásitos y a la recuperación del tejido. Esto puede ser relevante para reevaluar la dosis utilizada actualmente para el tratamiento de esta patología, con objeto de reducir los efectos adversos.

IyP27- COMPARACIÓN DE ANTÍGENOS SELECCIONADOS POR CRITERIOS RACIONALES PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS DE SUBUNIDADES CONTRA *TRYPANOSOMA CRUZI*

Iván A. Bontempi, Pedro E. Fleitas, Gabriel Cabrera, Miguel H. Vicco, Luz Rodeles, Alexia A. Poato, Diego Arias, Sergio Guerrero, Iván S. Marcipar.

Laboratorio de Tecnología Inmunológica. E-mail: ibontempi@hotmail.com

La comparación bibliográfica de inmunoprotección de distintos antígenos es poco concluyente ya que los modelos de infección que se utilizan son heterogéneos. Además, los trabajos en los que se ha comparado la inmunoprotección de diferentes antígenos en iguales condiciones son escasos, por lo que esta es una tarea de vacancia. En este trabajo evaluamos proteínas de *Trypanosoma cruzi* que presentan características deseables a la hora de seleccionar racionalmente antígenos vacunales. Incluimos candidatos ya evaluados en la bibliografía junto con otros no descritos previamente. Dentro de los primeros incluimos a la Trans-sialidasa (TS) y la Cruzipaina (CZ) involucrados en la invasión y evasión del parásito. En los segundos incluimos antígenos que han mostrado ser inmunodominantes en virtud de sus secuencias repetitivas (FRA, B13, Tc3, Tc6) y a las enzimas Triparredoxina (TXN) y Triparredoxina citoplasmática (CPX) involucradas en la evasión por inactivación de los sistemas redox. Se inmunizaron las diferentes moléculas con adyuvante de Freund a ratones Balb/c. La inmunización generó altos niveles de anticuerpos específicos previo al desafío con los antígenos FRA, TXN, CPX, Tc3, CZ y TS ($P > 0,05$ vs preinmune; Mann-Whitney). Además se obtuvo una relación IgG2a/IgG1 superior a 1 para CZ, Tc3 y TS ($P < 0,001$, Kruskal-Wallis). Luego se desafiaron con *T. cruzi*, siendo CZ, Tc3 y TS los que mayor sobrevida presentaron. Dichos antígenos se revaluaron empleando el mismo modelo de infección, pero utilizando el adyuvante de nueva generación ISCOMATRIX. Los grupos CZ y TS presentaron mayor inflamación en la reacción de hipersensibilidad ($P < 0,05$; Mann-Whitney, con respecto al grupo control). Luego de la infección, los grupos CZ y TS generaron una disminución muy significativa de la parasitemia ($P < 0,05$; CZ o TS vs grupo control, Mann-Whitney). Finalmente, la sobrevida obtenida para los inmunógenos fue de 80% para el grupo CZ y del 100% para el grupo TS ($P < 0,05$; Mantel-Cox).

IyP28- EFECTO DE *T. CRUZI* SOBRE LA LÍNEA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS XS106

Brenda C Gutierrez⁽¹⁾, Estela Lammel⁽¹⁾, Marcel Ramirez⁽²⁾, Stella González Cappa⁽¹⁾, Carolina Poncini⁽¹⁾.

⁽¹⁾IMPAM, UBA-CONICET, Facultad de Medicina. ⁽²⁾Laboratorio de Biología Molecular de Parásitos e Vectores, Fiocruz, Brasil. E-mail: bren.gutierrez73@gmail.com

Estudios previos del laboratorio demostraron que tripomastigotes (Tp) de la cepa RA purificados de sangre periférica de ratón, regulan negativamente la activación y funcionalidad de células dendríticas (CDs) derivadas de médula ósea in vitro (Poncini 2008). Recientemente hemos confirmado que tales hallazgos correlacionaron con lo observado en subpoblaciones de CDs durante la infección in vivo (Poncini 2015). En el presente trabajo estudiamos el efecto de la interacción de tripomastigotes de *T. cruzi* con la línea celular XS106, CDs derivadas de piel de ratón (Mohan 2005). Por citometría de flujo, caracterizamos en las XS106 la expresión en superficie de marcadores que permiten identificar diferentes subtipos de células presentadoras de antígeno (CPAs). Observamos que son células CD11c⁺ que presentan niveles intermedios de la molécula CD11b y baja expresión de F4/80 y CD207. Asimismo, encontramos que presentan un estado basal de activación con alta expresión de moléculas coestimuladoras CD40 y CD86, además de CMHII. Similar a lo observado en CDs derivadas de MO (CD-MO), los parásitos per se no estimularon la expresión de moléculas del CMHII. Particularmente en CDs XS106, *T. cruzi* reguló negativamente la presencia de CD40. En estudios de co-cultivo celular con Tp sanguíneos o metacíclicos CFSE+

y mediante citometría de flujo y/o microscopía óptica, observamos que ninguno de estos estadios del parásito alteró la viabilidad de CDs XS106. Notablemente, las mismas presentaron mayor resistencia a la infección por *T. cruzi* que las CDs-MO. Los resultados obtenidos sugieren que estadios del parásito podrían interactuar de manera diferencial con distintas CPAs.

IyP29- IMPORTANCIA DE LOS EPITOPES SULFATADOS EN LA INMUNOPATOGENESIS DE LA ENFERMEDAD EXPERIMENTAL DE CHAGAS

Luciana L. Soprano⁽¹⁾, Maximiliano R. Ferrero⁽¹⁾, María L. Olgiati⁽¹⁾, Diana M. Acosta⁽¹⁾, Gabriela A. García⁽¹⁾, Mónica I. Esteva⁽¹⁾, Alicia S. Couto⁽²⁾, Vilma G. Duschak⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben". ⁽²⁾CIHIDECAR (CONICET), Depto de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. E-mail: luciana_soprano@yahoo.com.ar.

La cruzipaina (Cz) de *Trypanosoma cruzi* presenta un dominio C-terminal (C-T) con modificaciones post-traduccionales, responsable de la mayoría de los anticuerpos producidos tanto en la infección natural y experimental. El análisis por EM-UV-MALDI-TOF permitió identificar la presencia de oligosacáridos de tipo alta manosa sulfatados en el C-T de la glicoproteína. Además, mediante inmunoensayos realizados con sueros de pacientes con enfermedad de Chagas confirmamos que la estructura sintética 6-SO₃-NacGlc mimetiza al epítotope N-glicano sulfatado presente en la Cz nativa. Inmunizaciones previas con C-T en ratones BALB/c mostraron anomalías estructurales cardíacas, ausentes en los inmunizados con C-T desulfatado. Con el fin de confirmar el rol de estos epítotope sulfatados de la Cz, se inmunizaron ratones BALB/c con 6SO₃-NacGlc y NacGlc acopladas a BSA. Los resultados obtenidos señalan: i) que al utilizar 6SO₃-NacGlc como inmunógeno hay un predominio de isotipos IgG2b e IgG1 en comparación con el perfil obtenido cuando NacGlc-BSA es empleada como antígeno; ii) que el análisis por DTH mostró diferencias significativas en el reclutamiento celular al inocular a los ratones inmunizados con 6SO₃-NacGlc y iii) la presencia de anomalías ultraestructurales en tejido cardíaco de ratones inmunizados con la molécula sintética sulfatada. Los ratones inmunizados fueron desafiados con *T. cruzi*, cepa Tul 2 y el grupo inmunizado con 6SO₃-NacGlc-BSA registró parasitemias excesivamente altas (4.0 x 10⁷) y persistentes. El seguimiento serológico de las enzimas indicadoras de daño muscular a lo largo del estudio mostró niveles de GOT y LDH significativamente elevados el día 21 post-infección en el grupo inmunizado con 6SO₃-NacGlc-BSA. Los resultados obtenidos con el epítotope sulfatado en coincidencia con los estudios previos de inmunización con Cz/C-T, refuerzan el rol de los grupos sulfato en la severidad de la infección y la patogénesis de la enfermedad de Chagas experimental.

IyP30- LA INMUNIZACIÓN CON PROFILINA DE NEOSPORA CANINUM INDUCE UNA PROTECCIÓN LIMITADA A LA INFECCIÓN CEREBRAL Y UNA RESPUESTA REGULATORIA EN EL MODELO MURINO

Florencia C Mansilla⁽¹⁾, María E Quintana⁽¹⁾, Cecilia Langellotti⁽¹⁾, Maximiliano Wilda⁽²⁾, Andrea Martínez⁽³⁾, Adriana Fonzo⁽³⁾, Dadín Prando Moore⁽⁴⁾, Nancy Cardoso⁽¹⁾, Alejandra V Capozzo⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Virología. INTA CNIA. ⁽²⁾Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein. CABA, Bs. As. ⁽³⁾Tecnovax S.A. CABA, Bs. As. ⁽⁴⁾Estación Experimental INTA Balcarce. Bs. As. E-mail: mansilla.florencia@inta.gob.ar

Las profilinas son proteínas de unión a actina que regulan la polimerización y des-polimerización de los filamentos de actina. En los apicomplejos son esenciales para la invasión de la célula huésped. Se ha reportado que las profilinas pueden iniciar la respuesta inmune activando distintos TLRs en las células dendríticas (DCs), induciendo la producción de citoquinas pro-inflamatorias vía MyD88. En este trabajo caracterizamos por primera vez la respuesta inmune y el grado de protección conferido por una vacuna basada en la profilina de *N. caninum* (NcPRO) en BALB/c. Se inmunizaron grupos de 8 ratones con dos dosis de rNcPRO expresada en *E. coli* o PBS (grupo control), ambos formulados con un adyuvante basado en lecitina de soja enriquecido en agonistas de TLRs. Tres animales de cada grupo fueron sacrificados a los 38 días post-vacunación (dpv). Los cinco restantes fueron desafiados con 1x10⁶ taquizoítos de la cepa Nc1. En los animales vacunados se detectaron anticuerpos específicos anti-NcPRO, principalmente de los isotipos IgM e IgG3, que fueron consumidos luego del desafío. Los esplenocitos de los animales inmunizados proliferaron luego de una estimulación *in vitro* con rNcPRO purificada pre y post-desafío. Sin embargo, se observó una disminución de la respuesta celular en los animales vacunados e infectados en respuesta a una estimulación *in vitro* con antígenos nativos de *N. caninum*, relacionado a un incremento en el porcentaje de células reguladoras CD4+CD25+FoxP3+. Se observó protección en dos de los cinco animales vacunados y desafiados. Estos no mostraron la presencia de ADN del parásito en tejido cerebral por PCR anidada y no mostraron lesiones histopatológicas de encefalitis, que se evidenciaron en el grupo control. En resumen, nuestros resultados proveen evidencia de una respuesta regulatoria inducida por la vacunación con rNcPRO y sugieren un posible rol de esta proteína en la modulación y/o evasión de la respuesta inmune contra *N. caninum*.

SECCIÓN: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (ByBM)

ByBM1-CO5- COMPARATIVE SECRETOME ANALYSIS OF TWO *TRYPANOSOMA CRUZI* STRAINS DURING THE EMERGENCE OF TRYPOMASTIGOTES FROM CELLS

Jean-Yves Brossas⁽¹⁾, George Palazon⁽¹⁾, Manuel Chapelle⁽²⁾, Luc Paris⁽³⁾, Dominique Mazier⁽¹⁾, Ernesto Gullin⁽⁴⁾, Margarita Bisio⁽⁴⁾, Jaime Altcheh⁽⁴⁾.

⁽¹⁾Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMRS1135, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de Parasitologie-Mycologie. Paris, France. ⁽²⁾Bruker daltonique Champs-sur Marne, France. ⁽³⁾Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de Parasitologie-Mycologie. Paris, France. ⁽⁴⁾Hospital de Niños Ricardo Gutierrez, Parasitología-Chagas, Buenos Aires. E-mail: brossas.jeanyves@gmail.com

Background: Chagas disease is a debilitating and often fatal disease resulting from infection with the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. The efficacy of treatment (benznidazole and nifurtimox) is variable and varies with the disease phase. Diagnosis by direct pathogen detection can be difficult. Serologic tests are sensitive but are unable to assess treatment response. In fact, the cure of Chagas disease can be confirmed by observation of a stable seroconversion only several years after treatment. It is evident that the development of a rapid test to detect the parasite in serum and to evaluate treatment response is highly desirable. Goal: In order to identify new biomarkers that may improve diagnostic tests, we investigated in vitro secretion of *T. cruzi* proteins and compared the secretomes of two strains (VD and CL Brener). Methods: We used mass spectrometry to analyse the protein content of conditioned medium culture without serum collected during the emergence of trypomastigotes from Vero cells after infection with *T. cruzi*. We validate markers by immunodetection during the acute phase in a mouse model infected with *T. cruzi*. Results: The results of the secretome analysis yielded 364 common proteins. A large majority of these proteins reflect the expression of different multigenic super families (e.g. TcS, GP63, MASP, and DGF1). We propose a short list of *T. cruzi* antigens that could be found in the serum and could indicated the presence of the parasite. We obtained antibodies against some of these antigens and validated them using *T. cruzi* protein extracts from culture supernatant and mouse sera. Conclusions: This study provides the first overview of the comparative secretomes from cells by one of two strains of *T. cruzi*. Some of the antigens identified appear detectable in the sera of mice infected with *T. cruzi*. These proteins should be sought in sera collected from patients with Chagas disease in order to evaluate their possible status as biomarkers.

ByBM2- DETECCIÓN DE *TOXOPLASMA GONDII* EN SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE GALLINAS DE PERÚ Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR POR nPCR-RFLP

Lais L Pardini⁽¹⁾, Gastón Moré⁽¹⁾, Andrea Dellarupe⁽¹⁾, María L. Gos⁽¹⁾, Marco Quispe Huacho⁽²⁾, Renato Acco Albuquerque⁽²⁾, Marcos E. Serrano Martinez⁽²⁾, María C. Venturini⁽³⁾

⁽¹⁾Laboratorio de Inmunoparasitología-FCV-UNLP y CONICET. ⁽²⁾Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. ⁽³⁾Laboratorio de Inmunoparasitología-FCV-UNLP. E-mail: laispardini@gmail.com

La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria que afecta un amplio rango de hospedadores. Mundialmente se han descrito 3 genotipos asociados a la virulencia. Sin embargo en Sudamérica es frecuente la aparición de genotipos atípicos en diferentes especies. El objetivo de este estudio fue identificar y genotipificar *Toxoplasma gondii* a partir de sistema nervioso central (SNC) de gallinas de traspatio provenientes de Perú, dado que son un excelente indicador de contaminación ambiental con ooquistes. Se recibieron 54 SNC de gallinas (N°1 al 54) de la ciudad de Lima (cooperación CONCYTEC-MINCYT) que se conservaron a -20°C. Se extrajo el ADN y se realizó la PCR para los primers TOX5-TOX8 específicos para *T.gondii*. Cinco (2,7%) muestras resultaron positivas por PCR y 4 se genotipificaron por nPCR-RFLP utilizando 9 marcadores (SAG2, BTUB, GRA6, SAG3, PK1, L358, C22-8, C29-2, Apico) resultando 3 de ellas con genotipos atípicos. La muestra 21 fue caracterizada como tipo III para todos los marcadores, como tipo I para C22-8 y C29-2 y tipo II para BTUB. Las muestras 25 y 27 fueron genotipificadas como tipo III para BTUB, GRA6, SAG3 y PK1; como tipo II para SAG2 y como tipo I para L358, C22-8, C29-2 y Apico. La muestra 45 fue caracterizada como tipo III para todos los marcadores no pudiéndose caracterizar para SAG2 y PK1. Este último genotipo (parcial) fue similar a los reportados en la ToxoDB (<http://toxodb.org/toxo/>) como: #90 de oso negro (Canadá), #72 de humano (USA) y #2 de humano, cerdo, oso, gato, gallina y halcón (Alemania, Francia, Panamá, USA) lo que indicaría una amplia distribución a nivel mundial del mismo, tanto en especies domésticas como silvestres. Los genotipos de las muestras 21, 25 y 27 no han sido reportados previamente en otras regiones geográficas o especies animales. Es importante conocer los genotipos circulantes para profundizar en la epidemiología de la enfermedad y su relación con la salud pública.

ByBM3- THE TBVPS15 KINASE IS ESSENTIAL FOR *TRYPANOSOMA BRUCEI* SURVIVAL AND IS INVOLVED IN INTRACELLULAR TRAFFIC

Alejandra C Schoijet⁽¹⁾, Kildare Miranda⁽²⁾, Wanderley de Souza⁽²⁾, Mirtha M Flawid⁽¹⁾, Guillermo D Alonso⁽¹⁾.

⁽¹⁾INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ⁽²⁾Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil. E-mail: aschoijet@gmail.com

The phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) Vps34 is a protein that plays an important role in many processes such as vesicular trafficking, endocytosis and autophagy. This protein is found in yeast and mammalian forming a complex with the kinase Vps15. This kinase is postulated to be necessary for Vps34 activity, since its deletion leads to a loss of PI3P production and disruption of vesicular trafficking. Although Vps34 does not appear to be a substrate of Vps15, mutations in its catalytic domain prevent binding to Vps34. Overall; the role of this protein is not well elucidated. Previously, in our laboratory we have cloned and characterized the TcVps15 kinase in *Trypanosoma cruzi*, which showed to be involved in autophagy. In this work, we have identified the Vps15 orthologue in *Trypanosoma brucei*. Knockdown of TbVps15 expression in the procyclic form by RNA interference produces a severe growth defect, with a block of cytokinesis, accompanied by a variety of morphological abnormalities. Cells induced with tetracycline also showed a significant reduction of Concanavalin A transport to the lysosome, indicating that TbVps15 may be involved in intracellular transport. To further study the role of this protein we will perform experiments with dextran and transferrin to assess its role in endocytosis, as well as investigate its possible role in autophagy by starvation experiments. These experiments will complete those obtained in *Trypanosoma cruzi*, with the purpose of elucidate the role of this protein in both parasites and their participation in the signaling cascade involving Vps34.

ByBM4- PRIMERA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE TOXOPLASMA GONDII EN RATOS RATTUS EN ARGENTINA

Juan M. Unzaga⁽¹⁾, Andrea Dellarupe⁽¹⁾, Bruno Fitte⁽²⁾, Maria R. Robles⁽²⁾, Kevin Steffin⁽¹⁾, Lais Pardini⁽¹⁾, Gastón Moré⁽¹⁾, Graciela Navone⁽²⁾, Maria C. Venturini⁽¹⁾.

⁽¹⁾LAINPA, FCV, UNLP. ⁽²⁾CEPAVE-CONICET. E-mail: junzaga2003@yahoo.es

La toxoplasmosis es una zoonosis de amplia distribución mundial que afecta a mamíferos y aves. Los roedores sinantrópicos son HI cuya infección puede dar cuenta de la situación sanitaria ambiental por la presencia de oocistos de *Toxoplasma gondii* en zonas urbanas y periurbanas. El objetivo del presente trabajo fue realizar la caracterización molecular de *T. gondii* a partir de una muestra de sistema nervioso central (SNC) de *Rattus rattus* procedente de una zona periurbana de la ciudad de La Plata. En el Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores (CEPAVE) se realizó la necropsia de 7 especímenes de *R. rattus* (R1-R7), obteniéndose muestras de sangre y SNC. El SNC se procesó para el estudio histopatológico y se observaron quistes compatibles morfológicamente con *T. gondii* en 1 espécimen (R1). En el Laboratorio de Inmunoparasitología FCV-UNLP (LAINPA) se realizó la serología por IFI ($\geq 1/800$) y se procedió a la extracción de ADN de SNC, se utilizaron los *primers* TOX5-TOX8 para la prueba de PCR que permitió detectar ADN específico para el parásito. El aislamiento se caracterizó por nPCR-RFLP para 9 marcadores (nSAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c29-2, c22-8, L358, PK1 y APICO) resultando ser tipo III. Acorde a nuestro conocimiento esta es la primera caracterización molecular de *T. gondii* en roedores sinantrópicos en Argentina. Nuevos estudios de caracterización molecular permitirán ampliar el conocimiento del mapa epidemiológico de la toxoplasmosis.

ByBM5- RELACIÓN ENTRE LA NUCLEÓSIDO DIFOSFATO QUINASA 1 DE TRYPANOSOMA CRUZI Y LA REPARACIÓN DEL ADN

Claudio A. Pereira, Chantal Reigada, Fabio A. Digirolamo, Melisa Sayé, Edward A. Valera Vera, Mariana R. Miranda.

Laboratorio Parasitología Molecular, IDIM. E-mail: mirandamariana@gmail.com

Las nucleósido difosfato quinasa (NDPK) son enzimas que intervienen en la homeostasis intracelular de nucleótidos di- y trifosfato. Son consideradas enzimas multifuncionales por participar en diversos procesos celulares como apoptosis, transducción de señales y reparación de ADN, entre otros. De la misma manera, la NDPK1 de *Trypanosoma cruzi* (TcNDPK1), es una enzima con múltiples funciones ya que es secretada por el parásito, está involucrada en la resistencia a drogas tripanocidas y tiene la capacidad de unirse y degradar ácidos nucleicos in vitro. En el presente trabajo estudiamos la relación de la TcNDPK1 con la reparación del ADN in vivo. En primera instancia, evaluamos la frecuencia de mutación espontánea en bacterias que expresan la TcNDPK1 mediante la selección de colonias resistentes a rifampicina. Observamos que la frecuencia se redujo 5 veces respecto del control, sugiriendo una posible participación de la TcNDPK1 en mecanismos de reparación de ADN. Para evaluar este fenómeno en *T. cruzi*, construimos un modelo de sobre-expresión en epimastigotes (N1). Estos parásitos presentan un crecimiento más lento que los parásitos control, alcanzando densidades de 2 a 3 veces menores en fase estacionaria. El tratamiento con agentes genotóxicos como el peróxido de hidrógeno demostró que sobreviven a altas concentraciones del mismo, siendo la IC50 significativamente superior respecto del control, 323 μM y 182 μM , respectivamente. Por último, se evaluó la integridad del material genético mediante técnicas electroforéticas clásicas y se encontró que estos parásitos presentan el ADN más degradado. Los resultados mostrados sugieren que la TcNDPK1 podría estar involucrada en la maquinaria de reparación de ADN, de esta manera su sobre-expresión generaría rupturas en el material genético provocando una activación de los mecanismos de reparación y dando como consecuencia mayor resistencia al peróxido de hidrógeno.

ByBM6- PRIMER AISLAMIENTO DE UN GENOTIPO ATÍPICO DE *TOXOPLASMA GONDII* EN UN CASO DE TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA HUMANA EN ARGENTINA

Lais Pardini⁽¹⁾, Liliana Carral⁽²⁾, Andrea Dellarupe⁽¹⁾, Gastón Moré⁽¹⁾, Mariana Bernstein⁽¹⁾, María L. Gos⁽¹⁾, Cristina B. Freuler⁽²⁾, Juan M. Unzaga⁽³⁾, Federico J. Kaufer⁽²⁾, Ricardo A. Durlach⁽²⁾, María C. Venturini⁽³⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Inmunoparasitología-FCV-UNLP y CONICET. ⁽²⁾Centro de Toxoplasmosis y otras Zoonosis, Hospital Alemán, Buenos Aires. ⁽³⁾Laboratorio de Inmunoparasitología-FCV-UNLP. E-mail: laispardini@gmail.com

La toxoplasmosis es una zoonosis que puede producir lesiones variables en el feto humano durante su desarrollo. En el Laboratorio de Inmunoparasitología de la FCV-UNLP (LAINPA) se han caracterizado aislamientos de animales domésticos y silvestres en Argentina pero sólo uno a partir de una infección congénita humana. El objetivo de este estudio fue aislar y genotipificar *Toxoplasma gondii* a partir de sangre de cordón de una mujer embarazada con serología positiva a *T. gondii*. En el Hospital Alemán se detectaron anticuerpos anti *T. gondii* en la madre (tercer trimestre) por Sabin-Feldman (SF) 1/16384, ISAGA-IgM 1/16384, IgA 1/1024 e IgE negativo. En el recién nacido se detectó por SF 1/4096, ISAGA-IgM 1/4096, IgA 1/1024, IgE negativo y a los 3 meses de vida SF 1/16834, ISAGA-IgM 1/256, IgA 1/1024, IgE negativo. Al parto se obtuvo sangre de cordón que se inoculó en un ratón MNRI (R1). El mismo se sacrificó y se detectaron anticuerpos por SF (1/16834) y quistes en sistema nervioso central (SNC). El aislamiento se conservó por pasaje en ratón (Swiss) en el LAINPA. Se observaron quistes en SNC y taquizoítos en el lavado peritoneal que se cultivaron en células VERO. Se extrajo ADN de SNC y se utilizaron los primers TOX5-TOX8 para la prueba de PCR que permitió detectar ADN específico para el parásito. El aislamiento se caracterizó por nPCR-RFLP para 9 marcadores (nSAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c29-2, c22-8, L358, PK1 y APICO) siendo tipo III para todos excepto para C29-2 (tipo I). Este genotipo es similar al identificado en ToxoDB como #14 ó 138. Este nuevo aislamiento es diferente al previamente reportado por nuestro equipo como tipo II en placenta humana y es similar a aislamientos provenientes de wallabies y gallinas de Argentina y de animales domésticos y silvestres de Sudamérica y Estados Unidos. Nuevos estudios de caracterización molecular permitirán conocer el mapa epidemiológico de la toxoplasmosis en Argentina.

ByBM7- LOS TRANSPORTADORES DE POLIAMINAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI* REGULAN EL INGRESO DE DROGAS Y LA RESPUESTA A ESTRÉS OXIDATIVO

Chantal Reigada⁽¹⁾, Mariana R. Miranda⁽¹⁾, Melisa Martínez Saye⁽¹⁾, Rodrigo A. López Muñoz⁽²⁾, Edward Valera⁽¹⁾, Fabio di Girolamo⁽¹⁾, Claudio A. Pereira⁽¹⁾.

⁽¹⁾IDIM-CONICET. ⁽²⁾Universidad Austral de Chile. E-mail: chanreigada@hotmail.com

Las poliaminas son metabolitos esenciales en la proliferación de *Trypanosoma cruzi* y son obtenidas exclusivamente del medio extracelular por mecanismos de transporte. Debido a que el parásito es incapaz de sintetizarlas *de novo* se postula que las permeasas de poliaminas son posibles blancos terapéuticos contra la Enfermedad de Chagas. En nuestro laboratorio se realizó un análisis bioinformático sobre el genoma de *T. cruzi* que permitió identificar seis posibles transportadores de poliaminas. En el presente trabajo se continuó con la caracterización de uno de los mismos denominado TcPAT12. Mediante la construcción de un modelo de parásitos transgénicos que sobre-expresan TcPAT12, se demostró que los mismos transportan significativamente más putrescina y espermidina que la cepa control (650% y 230%, respectivamente) pero no se encontraron diferencias en el transporte de arginina. Por otro lado, en trabajos anteriores se determinó que la pentamidina, una droga antiparasitaria utilizada contra la leishmaniasis y la tripanosomiasis africana, también tiene efectos contra *T. cruzi*. Se estudió el mecanismo de acción de la droga sobre el transporte de poliaminas y se determinó que la droga inhibe significativamente el transporte de estas moléculas en todos los estadios del parásito. También se evaluó el efecto de la pentamidina en los parásitos TcPAT12 y se observó que la droga inhibe un 80% el transporte de putrescina mediado por dicho transportador. Se evaluó además la respuesta de estos parásitos al estrés oxidativo mediante el tratamiento con peróxido de hidrógeno. Los parásitos TcPAT12 presentaron una IC50 significativamente mayor que los parásitos control. Esta resistencia a estrés oxidativo puede estar regulada por el transporte de poliaminas, reforzando la importancia de estas moléculas en *T. cruzi*. Estos resultados demuestran que el transporte y metabolismo de poliaminas son buenos candidatos como blancos terapéuticos de aplicación en la Enfermedad de Chagas.

ByBM8- EXPERIMENTAL APPROACHES FOR THE FUNCTIONAL STUDY OF A PUTATIVE CALCIUM BINDING PROTEIN IN *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Mariana Potenza⁽¹⁾, Antonio Osuna Carrillo⁽²⁾, Diana P. Wehrend⁽¹⁾, María T. Tellez-Iñón⁽¹⁾.

⁽¹⁾INGEBI. ⁽²⁾Laboratorio de Parasitología, Instituto de Biotecnología de la Universidad de Granada, España. E-mail: potencia@dna.uba.ar

Data from genome annotation and mass spectrometry projects of pathogens has allowed the identification of novel proteins, for which their putative functions cannot be predicted by sequence similarity. *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease, has a complex life cycle in which cell differentiation and invasion are tightly coordinated. In this

parasite, calcium and calcium binding proteins play important roles in the processes of mammalian cell infection and survival. Using a rational search engine, we selected an uncharacterized gene, named TcCALI which encodes a 103 amino acid protein with two putative calcium binding sites. Previously, we found that this protein is able to form disulphide bonds and has a putative palmitoylation domain. We also found TcCALI localizes along the cytoplasm in all differential stages of the parasite and several protein bands at higher molecular weight than expected are detected by western blot. In order to study TcCALI's role on the parasite physiology, we searched for its associated components, to characterize the metabolic environment of this protein with unknown function. To this aim, two experimental approaches were addressed. First, protein extracts from *T. cruzi* were immunoprecipitated using anti-TcCALI antibodies and commercial kits consisting of recombinant Protein G covalently coupled to magnetic beads. The results showed that TcCALI associates to one or more components, which probably modify the TcCALI conformation. On the other hand, yeast two hybrid assays are undergoing with the objective to identify TcCALI binding partners from a cDNA library. For this, TcCALI and Lamin (negative control) were cloned separately in the shuttle vector pBMT116 and transfected to *S. cerevisiae* (L40 strain). Selection of recombinant yeast was achieved plating transformants in minimal media. Future steps involve transfection of TcCALI expressing yeasts with a *T. cruzi* cDNA library cloned in the pVP16 vector.

ByBM9- CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE DOS ISOCITRATO DESHIDROGENASAS DE LEISHMANIA MEXICANA, ESPECÍFICAS PARA NAD Y NADP

Lucila Giordana, Cristina Nowicki.

IQUIFIB, UBA Facultad de Farmacia y Bioquímica. E-mail: lgiordana@ffyba.uba.ar

Tanto tripanosomas como *Leishmania spp.* carecen de la canónica IDH heteromérica mitocondrial vinculada al ciclo de Krebs y a la producción de NADH en la organela de eucariotas. Sin embargo, las especies de *Leishmania* poseen dos genes sintéticos que codifican para posibles isocitrato deshidrogenasas (IDHs). Análisis filogenéticos previos mostraron que sólo una de ellas tiene clara relación con las IDHs de tripanosomas, en cambio la otra se agrupa con homólogos de archaeobacterias. Utilizando *L. mexicana* como modelo, clonamos ambos genes y expresamos las proteínas recombinantes en *E. coli*. Ambas IDHs decarboxilan activamente isocitrato para formar 2-oxoglutarato, pero una de ellas utiliza NADP⁺ y la otra NAD⁺. Estudios cinéticos demostraron que ambas isoformas poseen valores de Km aparentes similares para el isocitrato (entre 10 µM y 30 µM), aunque presentan estricta especificidad para la coenzima, con afinidades en el orden bajo µM para el NAD⁺ o NADP⁺. Además, al igual que en la mayoría de las IDHs, en las enzimas recombinantes de *L. mexicana* los valores de Km aparentes para el isocitrato son dos órdenes de magnitud más bajos que para el 2-oxoglutarato y catalizan la formación de este último a velocidades extremadamente lentas. Esto sugiere que in vivo, esta preferencialmente favorecida la decarboxilación del isocitrato, formando 2-oxoglutarato y NADPH o NADH, según la especificidad de la enzima. La localización subcelular de las IDHs en *Leishmania* no ha sido investigada todavía. Sin embargo, es tentador especular que si la isoforma NAD⁺ dependiente se localizara en la mitocondria podría contribuir al funcionamiento de un verdadero ciclo de Krebs y a la generación de NADH para la fosforilación oxidativa. En cambio, si la IDH que utiliza NADP⁺ se localizara en el citosol, podría proveer los equivalentes de reducción necesarios tanto para los procesos de biosíntesis como para la defensa frente al estrés oxidativo.

ByBM10- DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS INHIBIDORES DEL TRANSPORTE DE POLIAMINAS EN TRYPANOSOMA CRUZI

Lucas N. Alberca⁽¹⁾, María L. Sbaraglini⁽¹⁾, Darío M. Balcazar⁽²⁾, Laura Fraccaroli⁽²⁾, Carolina Carrillo⁽²⁾, Alan Talevi⁽¹⁾.

⁽¹⁾Cátedra de Química Medicinal. ⁽²⁾Instituto de Ciencia y Tecnología César Milstein. E-mail: lucas_abk@hotmail.com

La enfermedad de Chagas afecta a más de 6 millones de personas en Latinoamérica. Pese al impacto epidemiológico, solo hay 2 fármacos disponibles para su tratamiento: Nifurtimox y Benznidazol, parcialmente efectivos y con graves efectos adversos. Existe por tanto la necesidad de encontrar nuevos tratamientos para esta enfermedad. Las poliaminas son sustancias esenciales para la proliferación e infectividad del *Trypanosoma cruzi*, agente causante de la enfermedad de Chagas. *T. cruzi* carece de biosíntesis de poliaminas *de novo* y, consecuentemente, el transporte de poliaminas del hospedador es esencial para el parásito. Esta característica convierte a las permeasas de poliaminas en un blanco molecular interesante para la búsqueda de compuestos tripanocidas. En los últimos años hemos desarrollado metodologías computacionales para la búsqueda racional de inhibidores de *T. cruzi*: en particular, analizamos bibliotecas de fármacos ya utilizados para el uso en humanos. Esta estrategia, denominada reposicionamiento de fármacos, tiene la gran ventaja de reducir costos y tiempos requeridos para validar un nuevo tratamiento. En este trabajo, se buscaron inhibidores específicos de la biosíntesis y/o transporte de poliaminas en *T. cruzi* mediante rastreo asistido por computadora. Se seleccionaron 6 candidatos para evaluar experimentalmente. 3 de los compuestos ensayados demostraron inhibición de la proliferación de epimastigotes concentración-dependiente (IC50 entre 5 y 50µM). Se evaluó también el efecto de los fármacos sobre el transporte de putrescina, espermidina, arginina y lisina, todos compuestos esenciales para el parásito cuyos transportadores pertenecen a la misma familia de permeasas, la AAAP (Permeasas de aminoácidos/auxinas). Los 3

fármacos presentaron fuerte inhibición del transporte para las 4 permeasas evaluadas. Los resultados son alentadores para avanzar hacia ensayos de invasión de tripomastigotes en modelos de infección celulares y animales.

ByBM11- CLONADO Y EXPRESIÓN DE FOSFOLIPASA A1 DE *LEISHMANIA BRAZILIENSIS* EN UN SISTEMA DE EXPRESIÓN DE BACULOVIRUS

Emanuel Bott⁽¹⁾, María G. López⁽²⁾, Guadalupe Gimenez⁽¹⁾, Estela M. Lamme⁽¹⁾, Evisa L. D. Isola⁽¹⁾, Oscar Taboga⁽²⁾, María L. Belaunzarán⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM, UBA-CONICET). ⁽²⁾Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), Instituto de Biotecnología, Castelar, Buenos Aires, Argentina. E-mail: parasitodife@yahoo.com.ar

Resultados de nuestro laboratorio sugieren un papel fisiológico importante para las fosfolipasas A1 (PLA1) de tripanosomátidos, particularmente en los estadios del mamífero, que podría contribuir a la patogénesis de las enfermedades causadas por estos patógenos. En *Leishmania braziliensis* detectamos previamente la presencia de actividad PLA1, realizando luego la búsqueda de genes putativos en TriTrypDB y seleccionando el gen LbrM.31.2750 para su clonado y expresión en *E. coli*. La proteína recombinante obtenida fue reconocida por suero anti-PLA1 pero no presentó actividad enzimática (Belaunzarán y col. 2011). En el presente trabajo clonamos y expresamos dicho gen en el sistema baculovirus-células de insecto Bac-to bac. La secuencia codificante para PLA1 se amplificó por PCR desde ADN genómico de promastigotes de *L. braziliensis* obteniendo un producto de 1122 pb que fue clonado en pCR2.1TOPO y sub-clonado en pFastBac HTB®. Los plásmidos que incorporaron el inserto se usaron para transformar bacterias DH10Bac y generar por transposición bácmidos recombinantes con los que se transfectaron células de insecto Sf9. El sobrenadante conteniendo los baculovirus recombinantes se cosechó a los 5 días y luego de 2 pasajes en células se titularon los stocks virales. Se infectaron células Sf9 a una MOI=1 y se cosecharon a las 24, 48 y 72 hs. El análisis por inmunoblot y los ensayos de actividad enzimática de los lisados celulares mostraron que, si bien los niveles de expresión fueron bajos, ésta alcanzó su valor máximo 72 hs post infección. La proteína expresada fue reconocida por el anticuerpo anti-Histidina, con un PM similar al de la enzima nativa de ~50 kDa, siendo capaz de hidrolizar fosfatidilcolina con generación de lisofosfatidilcolina, confirmando así que la misma posee actividad PLA1, la cual fue óptima a pH ~5. La secuencia correspondiente fue depositada en GenBankTM, número de acceso KJ957826. Financiado por Conicet.

ByBM12- ANÁLISIS DE POBLACIONES CIRCULANTES DE *TRYPANOSOMA CRUZI*: SUSCEPTIBILIDAD DIFERENCIAL AL TRATAMIENTO, DURANTE LA ETAPA AGUDA EXPERIMENTAL

Mariana Strauss, Silvina Lo Presti, Blanca Hebe Esteves, Carolina Bazán, Alejandra Báez, Daniela Velazquez Lopez, Noemí Miler, Patricia Paglini, Héctor W Rivarola.

Laboratorio de Chagas. Cátedra de Física Biomédica. Fac. de Cs. Médicas. E-mail: marianastr86@gmail.com

En la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, la enzima tripanotona reductasa ha demostrado ser una interesante alternativa; Clomipramina (fármaco tricíclico) (CLO) es un inhibidor directo de esta enzima. Su utilización en conjunto con Benznidazol (BZ), fármaco de uso habitual para el tratamiento de esta enfermedad, podría eliminar de manera selectiva diferentes poblaciones de *T. cruzi*. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de BZ y CLO sobre la infección con la cepa Y (Tc II) y con tres aislamientos naturales de *T. cruzi* (Casibla, Lucky y SGO-Z12) compuestos por una mezcla de linajes (Tc II y Tc VI). Se infectaron 4 grupos de 36 ratones con cada cepa/aislamiento y se los dividió en los siguientes subgrupos: infectados no tratados (INT), tratados con: CLO 1,25mg/kg/día (CLO1,25), CLO 5mg/kg/día (CLO5), BZ 100mg/kg/día (BZ100), BZ 6,25mg/kg/día (BZ6,25) y BZ6,25+CLO1,25 (n=6 en cada grupo). La eficacia del tratamiento se evaluó a través del estudio de la sobrevida hasta los 35 días post infección y la cuantificación de los parásitos en sangre mediante PCR en tiempo real. Las diferentes poblaciones se determinaron por RFLP (amplificación por PCR del gen del minixón y su posterior digestión con Bce AI). Todos los esquemas de drogas utilizados, disminuyeron la carga parasitaria en relación al grupo INT (P<0,05). Los grupos BZ100, BZ6,25+CLO1,25 y BZ6,25 presentaron alta sobrevida en los 4 grupos analizados. En los grupos infectados con Y, Lucky y SGO-Z12 y tratados con el esquema de drogas propuesto, no se encontraron poblaciones diferentes de *T. cruzi*, luego del tratamiento. Sin embargo los ratones infectados con el aislamiento Casibla presentaron diferentes poblaciones según el tratamiento aplicado y con respecto al grupo sin tratamiento.

Los aislamientos utilizados están compuestos por diversas subpoblaciones que pueden modificarse de acuerdo al tratamiento utilizado.

ByBM13- CARACTERIZACIÓN DE TcTASV-B, PROTEÍNAS DE LA FAMILIA DE TcTASV DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Mariana Rizzi⁽¹⁾, Noelia Floridia Yapur⁽²⁾, Gabriela V Levy⁽¹⁾, Daniel O Sánchez⁽¹⁾, Valeria Tekiel⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo Ugalde", IIB-INTECH, UNSAM - CONICET. ⁽²⁾Cátedra de Química Biológica. FCN, UNSa. Instituto de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, Sede Orán, UNSa. E-mail: mai_r9@hotmail.com

La familia de proteínas de superficie TcTASV compuesta por aproximadamente 40 miembros, no posee ortólogos en otros organismos y está conservada en diferentes linajes del parásito. De acuerdo a la longitud, secuencia y motivos de la región central de los productos proteicos se definen 4 subfamilias (TcTASV-A, B, C y W). La familia TcTASV-C se expresa en la superficie de tripomastigotes y se secreta mientras que la subfamilia A fue detectada en el citoplasma de tripomastigotes y amastigotes. Sin embargo, desconocemos el patrón de expresión de las subfamilias B y W. El objetivo de este trabajo fue caracterizar patrón de expresión y localización de la subfamilia TcTASV-B. Para esto, el gen TcCLB.511877.10 (aa 35 a 224) fue clonado en el vector pGEX fusionado a GST. Se indujo su expresión y se purificó la proteína recombinante, que se utilizó para inmunizar ratones y obtener sueros hiperinmunes anti-TcTASV-B. Para determinar el estadio de expresión de la proteína en *T. cruzi* y el peso molecular se realizaron ensayos de Western Blot sobre extractos de epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes. También se realizaron IFIs para localizar TcTASV-B según el estadio. Se determinó que TcTASV-B se expresa principalmente en amastigotes extracelulares y en tripomastigotes. No se detectó expresión en amastigotes intracelulares ni en epimastigotes. La localización de TcTASV-B en la membrana del parásito parece estar restringida a una región particular y no distribuida en toda la superficie. Por medio de programas de predicción determinamos que TcTASV-B estaría glicosilada y fosforilada y posee un péptido señal y secuencia para adición de ancla GPI. Estos resultados, conjuntamente con los obtenidos para TcTASV-C y A, sugieren que las diferentes subfamilias presentan patrones de expresión diferencial (estadio y localización) y estimulan el estudio de los mecanismos involucrados en estos procesos.

ByBM14- MAPEO FINO DE EPITOPES B EN LA FAMILIA DE PROTEÍNAS TcTASV-C DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Giselle M Rodriguez, Daniel O Sánchez, Valeria Tekiel.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo A. Ugalde", IIB, UNSAM-CONICET. E-mail: giselle_rodriguez@hotmail.com

La familia de proteínas TcTASV, compuesta por aproximadamente 40 miembros, presenta el motivo tasv_all (Vxxx[CES]xxTDGxLxWxxxxExxWxxCxxxP) y extremos amino y carboxi-terminales conservados. La región central y ciertos aminoácidos en las posiciones indeterminadas del motivo, distinguen 4 subfamilias. La subfamilia TcTASV-C se expresa en tripomastigotes, se secreta al medio extracelular y es reconocida por el 30% de los sueros infectados con *T. cruzi*. Recientemente, realizamos el mapeo fino de los epitopes B en 4 miembros TcTASV-C, empleando sueros humanos y microarreglos de alta densidad de péptidos (Carmona et al, Mol Cell Proteomics, 2015). En este trabajo, a partir de los epitopes identificados, diseñamos 7 péptidos que fueron utilizados para estudiar el perfil de reactividad de colecciones ampliadas de sueros de otras especies. El 58% de los sueros de conejos infectados con *T. cruzi* (n=19) y reactivos contra TcTASV-C (11/19) analizados, reconoció los péptidos 189_CBI68125/68109 (50%) y/o 172_CBI8078 (8,3%). Por otro lado, analizamos la reactividad de los sueros de ratones que habían sido inmunizados con TcTASV-C (vacunados) y posteriormente desafiados con una dosis letal de *T. cruzi* y sobrevivido (protegidos). La mayoría de los sueros de ratones vacunados (17/20, 85%) reconoció alguno de los péptidos, siendo los péptidos 172_CBI8078 y 189_CBI68125/68109 detectados por el 70% de los sueros. Además, el 45 % de éstos sueros detectó el péptido 46_CBI680061, cuya secuencia está incluida en el motivo conservado tasv_c. El perfil de epitopes reconocidos por los anticuerpos de animales sobrevivientes fue evaluado en muestras de sueros obtenidas a 40 y 60 días post-desafío y comparado con el perfil que presentan animales que sobreviven espontáneamente a la infección, con diferentes cepas de *T. cruzi*. Estos resultados sugieren que la reactividad humoral contra regiones incluidas en el motivo TcTASV-C parece ser importante para inducir protección en ratones.

ByBM15- NUEVOS COMPUESTOS ORGANOMETÁLICOS DE N-ÓXIDO DE AMINA AROMÁTICA COMO POTENCIALES AGENTES CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Florencia Mosquillo⁽¹⁾, Dinorah Gambino⁽²⁾, Leticia Pérez-Díaz⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, UdeLaR. ⁽²⁾Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, UdeLaR. E-mail: mmosquillo@fcien.edu.uy

La enfermedad de Chagas es una parasitosis potencialmente mortal causada por *Trypanosoma cruzi*, y constituye un importante problema de salud pública principalmente en América Latina. Recientemente hemos reportado la caracterización de nuevos compuestos metálicos de N-óxido de amina aromática de paladio y platino, los cuales registran valores de IC50 en el rango submicromolar sobre *T. cruzi*, con excelentes valores de índice de selectividad. Con el fin de profundizar en el estudio del modo de acción de estos compuestos, realizamos ensayos de citometría de flujo usando

sondas fluorescentes como marcadores de apoptosis temprana y necrosis para estudiar el mecanismo de muerte celular que inducen. Por otro lado, estudios previos de docking molecular en *T. cruzi* sugieren que ambos compuestos serían buenos inhibidores de la enzima NADH-fumarato reductasa (FRD). Dado que esta enzima no está presente en el hospedero mamífero, y además cataliza un importante paso metabólico imprescindible para la viabilidad del parásito, resulta de interés como blanco terapéutico. El efecto de los compuestos sobre la actividad enzimática fue confirmado experimentalmente mediante el uso de extractos proteicos de *T. cruzi*, lo que motivó esfuerzos para producir la enzima recombinante. Actualmente estamos realizando ensayos de actividad enzimática in vitro con la proteína recombinante purificada para determinar su funcionalidad, lo que permitirá evaluar el efecto inhibitorio de los compuestos, con el fin de validar a la FRD como blanco de acción de los mismos. Simultáneamente, estamos seleccionando parásitos transfectados sobreexpresando la enzima FRD para evaluar el efecto de la incubación con estos compuestos organometálicos. Finalmente, nos proponemos secuenciar el transcriptoma de parásitos tratados para comparar con parásitos control con el fin de identificar las posibles vías afectadas para entender el modo de acción de estos prometedores compuestos.

ByBM16- IN VIVO AND IN VITRO EFFICACIES OF GLIBENCLAMIDE TREATMENT AGAINST CYST ECHINOCOCCOSIS

Valeria Dávila^{*⁽¹⁾}, Claudia del Carmen Melucci Ganzarain^{*⁽¹⁾}, Daniela Drago^{*⁽²⁾}, Julia A. Loos^{⁽³⁾}, Christian R. Rodriguez^{⁽³⁾}, Andrea C. Cumino^{⁽³⁾}.

⁽¹⁾FCEyN - Universidad Nacional de Mar del Plata. ⁽²⁾FCEyN - Universidad Nacional de Mar del Plata, ^{*}These authors contributed equally to this work. ⁽³⁾Conicet, FCEyN - Universidad Nacional de Mar del Plata. E-mail: acumino@gmail.com

Cystic echinococcosis or hydatidosis is a widely endemic infection caused by the larval stage of *E. granulosus*, which produces clinical disease in humans and economic losses to the livestock industry. In this work we demonstrate that glibenclamide (Gli) inhibit viability in vitro of the *Echinococcus* protoscoleces and cysts, in a dose-dependent manner. After 15 days of incubation with 200µM Gli the viability of treated protoscoleces was reduced to 45 ± 5% whereas a 2-days treatment against in vitro cultures of cyst resulted in detachment of the germinal layers. Ultrastructural damages appeared earlier than the viability inhibition with low drug concentrations. In addition, on Gli-treated protoscoleces it was observed an increase in the intracellular Ca²⁺ concentration, the level of acidic vesicles and LC3II expression and key genes of the autophagic pathway (atg6, atg8, atg12 and atg18). Oral application of Gli (5 mg/kg of body weight administered daily) for a period of 8 weeks in *E. granulosus*-infected mice was effective in achieving reduction of parasite weight (0.23 ± 0.08 g) in respect to the control treatment (1.9 ± 0.6 g) and the albendazole-treated mice (0.9 ± 0.1 g of cyst weight with 5 mg/kg/day of drug). However, combined application of both drugs (Gli plus albendazole) did not increase the treatment efficacy, and the reduction in parasite weight was lower than when treated with albendazole alone, but higher than with Gli only. Our data clearly demonstrated a cytostatic effect of Gli in clinical efficacy studies that may be mediated through KATP channels and/or associated to the inhibition of the G1-S phase progression.

ByBM17- ESTUDIOS DE TRADUCCIÓN POR "RIBOSOME PROFILING" EN *TRYPANOSOMA CRUZI*

Pablo Smircich^{⁽¹⁾}, Guillermo Eastman^{⁽²⁾}, Saloe Bispo^{⁽³⁾}, Maria A Duhagon^{⁽¹⁾}, Beatriz Garat^{⁽⁴⁾}, Samuel Goldenberg^{⁽³⁾}, David Munroe^{⁽⁵⁾}, Bruno Dallagiovanna^{⁽³⁾}, Fabiola Holetz^{⁽²⁾}, José R. Sotelo-Silveira^{⁽²⁾}.

⁽¹⁾Laboratorio de Interacciones Moleculares. Facultad de Ciencias. Departamento de Genética. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. ⁽²⁾Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ⁽³⁾Laboratorio de estudios de regulación de la expresión génica. Instituto Carlos Chagas, FIOCRUZ. Curitiba, Brazil. ⁽⁴⁾Laboratorio de Interacciones Moleculares. Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. ⁽⁵⁾Cancer Research Technology Program, Leidos Biomedical Research, Inc., Frederick National Laboratory for Cancer Research. Frederick, USA. E-mail: psmircich@fcien.edu.uy

La regulación post-transcripcional constituye el principal nivel regulatorio en tripanosomátidos. Por lo tanto, el estudio de los transcritos que están siendo traducidos (traductoma) resulta clave para entender el control de su expresión génica. En este trabajo, determinamos el traductoma de *Trypanosoma cruzi* en los estadios epimastigota y trypomastigota metacíclico, usando la metodología ribosome profiling. El estadio trypomastigota metacíclico es el responsable de la infección del mamífero y resulta de un proceso de diferenciación a partir de los epimastigotas replicativos. Nuestros resultados correlacionan muy bien con datos proteómicos previos, siendo estas correlaciones mejores que las correspondientes al transcriptoma. Esto revela que la aproximación traductómica es más adecuada que la transcriptómica para estimar la expresión a nivel de proteínas. Los datos muestran que una gran proporción del traductoma de los epimastigotas está ausente en el estadio infectivo. Por otra parte, la eficiencia traduccional presenta un amplio rango dinámico y varios genes cambian su eficiencia en ambos estadios, apoyando la importancia de este nivel regulatorio en la expresión génica diferencial. En el estadio tripomastigota metacíclico, la eficiencia traduccional de importantes factores de virulencia como las proteínas de la superfamilia de las trans-sialidasas aumenta, mientras que la eficiencia de otras familias génicas como las proteínas ribosomales disminuye. Por otra parte, el análisis del traductoma resulta en la detección de pausas traduccionales. El análisis del uso de codones diferencial en estos sitios sugiere que el uso de codones modula la

cinética del movimiento de los ribosomas sobre el ARNm en estos parásitos. Globalmente, el estudio resalta la importancia de la regulación traduccional durante la diferenciación del parásito.

ByBM18-CO4- EL ANTÍGENO B DE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*: UNA PROTEÍNA DE UNIÓN A LÍPIDOS EN LA INTERFAZ HOSPEDERO-PARÁSITO

Ana Maite Folle⁽¹⁾, Valeria Silva-Álvarez⁽¹⁾, Eduardo S Kitano⁽²⁾, Leo K Iwai⁽²⁾, Ana M Ferreira⁽¹⁾.

⁽¹⁾Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias/Facultad de Química, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay. ⁽²⁾Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada, Center of Toxins, Immune-Response and Cell Signaling (CeTICS), Instituto Butantan São Paulo, Brazil. E-mail: maitefolle@gmail.com

El antígeno B (EgAgB) es una lipoproteína abundante del parásito *Echinococcus granulosus*. Se acumula como producto de excreción/secreción en el líquido hidático (LH) y logra alcanzar el exterior de la larva (hidátide). Su fracción proteica pertenece a una nueva familia de proteínas de unión a ligandos hidrofóbicos (HLBP) y agrupa al menos 5 genes que codifican productos polimórficos de 8 kDa (apolipoproteínas, EgAgB8/1-5). La fracción hidrofóbica compone el 50% de la partícula e incluye una amplia variedad de lípidos neutros y polares, muchos de los cuales el parásito es incapaz de sintetizar dado su restringido metabolismo lipídico. El EgAgB podría ser clave en la solubilización y el transporte de lípidos esenciales, tomados del hospedero, para satisfacer las demandas anabólicas del parásito. Como la especificidad de unión de los ligandos hidrofóbicos recae en el componente proteico, resultó de interés identificar cuales apolipoproteínas componen el EgAgB del LH de hidátides fértiles y no fértiles y de protoscolex. En todas ellas el EgAgB8/1 fue la principal apolipoproteína (95% de abundancia relativa por LC-MS/MS). Se identificaron EgAgB8/2, 3 y 4 en todas las muestras mientras que EgAgB8/5 sólo en LH de hidátides fértiles. Dada la necesidad de *E. granulosus* de adquirir lípidos esenciales, las células en la interfaz hospedero-parásito representan un blanco de interés para el EgAgB. Recientemente describimos la capacidad del EgAgB de unirse específicamente a monocitos y macrófagos. Como la mayoría de las hidátides tienen localización hepática, estudiamos si también puede interactuar con hepatocitos, utilizando citometría de flujo. El EgAgB nativo se unió a hepatocitos HepG2 con saturación a altas concentraciones e inhibición con EgAgB frío. Los resultados hacen relevante el análisis de los efectos desencadenados sobre el hepatocito a partir de la unión del EgAgB, tanto a nivel del metabolismo como de la síntesis de moléculas asociadas a las funciones de defensa.

ByBM20- EL CALCIO IÓNICO INTRACELULAR EN LAS CÉLULAS EGPE PROVENIENTES DEL *E. GRANULOSUS* DE ORIGEN BOVINO. ESTUDIO PRELIMINAR COMPARATIVO

Mariana Ferrulli, Melisa S Barbery V, Andrea F Maglioco, Emilio Roldán, Alicia G Fuchs.

CAECIHS, Universidad Abierta Interamericana. E-mail: mariana.ferrulli@gmail.com

Las células EGPE son una línea celular obtenida en nuestro laboratorio. Previamente hemos estudiado el efecto de los bisfosfonatos (Fuchs y col, 2014) y la actividad de fosfatasa alcalina (SAP 2013-2014) y en ambos casos los efectos involucran Ca^{2+} . Objetivo: Analizar la entrada y concentración de $[Ca^{2+}]_i$ de las células parasitarias en comparación a las células mamíferas. Métodos: Las células (well) EGPE 2×10^6 , HT29 (adenocarcinoma de colon humano) 1×10^5 y VERO (riñón de mono verde) 2×10^5 ; se hiperpolarizaron con las sales de calcio: gluconato (anión impermeable) y cloruro (anión permeable). Se incubaron con FLUO4AM (6 μ M) por 50min a 37° C en HBSS (mM): 149 Na⁺; 2,4 K⁺, 125,3 Cl⁻; 1,3 Mg²⁺, 10 glucosa, 0,1 EGTA y se midió en GLIOMAX. El Ca^{2+} se agregó c/ 0,5mM hasta 2,5mM final y la señal lectura c/ 1-2min hasta señal estable. Se calculó $[Ca^{2+}]_i = Kd \cdot (FI - F_{min}) / (F_{max} - FI)$ en cada punto ($F_{min} = FI \sin Ca^{2+}$; $F_{max} = FI$ obtenida después del agregado de 90 μ M de ionomicina). Se realizó Bradford para la medición de proteínas en las distintas células. Se realizaron 3-4 experimentos independientes y cada muestra x 5 wells. El control fue con FURA sin agregado de calcio. Resultados: se calcularon las siguientes $[Ca^{2+}]_i$ ($x \pm SD$; μ M): para Ca-gluc EGPE: 1,17 \pm 0,58 (n=4); VERO: 2,13 \pm 1,27 (n=3); HT29: 0,68 \pm 0,69 (n=3) y para CaCl₂ EGPE: 1,36 \pm 1,32 (n=4); VERO: 1,10 \pm 0,06 (n=3); HT29: 0,86 \pm 0,91 (n=3). No hay diferencias significativas (Test T), sin embargo p=0,07 se encontró entre VERO y HT29 con Ca-gluc y la correlación por Poisson entre Ca-gluc/ CaCl₂ en Vero=-1,00 mientras que en HT29 y EGPE + 1 y + 0,82 respectivamente. La cuantificación de la máxima $[Ca^{2+}]_i/\mu$ g prot indica que en las EGPE acumulan 6 veces más de calcio que las VERO (0,17 μ g y 0,03 μ g). Conclusiones: Las células EGPE son más parecidas en estas características a las HT29 (movilización de nutrientes y iones) que las VERO implicadas principalmente en el intercambio iónico- Las EGPE tienen más $[Ca^{2+}]_i$.

ByBM21- ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL

Lucia R. Fernandez⁽¹⁾, Alejandro D. Musikant⁽²⁾, Marianela Sánchez⁽³⁾, Gabriel Ferri⁽²⁾, Jorge A. Palermo⁽³⁾, Martín M. Edreira⁽²⁾.

⁽¹⁾IQUIBICEN-UBA-CONICET. ⁽²⁾IQUIBICEN-CONICET, Dpto. de Química. ⁽³⁾UMYMFOR-CONICET, Dpto. de Química Orgánica, FCEN, UBA, Buenos Aires, Argentina. E-mail: luciafernandezlq@hotmail.com

Según los cálculos de la OMS, se estima que en la Argentina existen unos 1,5 millones de infectados por *Trypanosoma cruzi* (4% de la población). Es por ello que el Ministerio de Salud de la Nación considera a la Enfermedad de Chagas como uno de los principales problemas de la salud pública. Sin embargo, en la actualidad no existen vacunas contra el parásito y los fármacos tripanocidas de primera línea, el Nifurtimox (Lampit[®]) y el Benznidazol (Radanil[®]), presentan alta toxicidad y baja eficiencia, especialmente en la fase crónica de la enfermedad. Existe entonces una necesidad urgente de desarrollar nuevas drogas antiparasitarias. En el presente trabajo, se seleccionaron compuestos de origen natural para su evaluación como potenciales agentes tripanocida. En particular, las lactonas sesquiterpénicas de origen vegetal son fuentes prometedoras para el desarrollo y la aplicación de nuevos fármacos, ya que esta clase de compuestos es conocida por poseer una gran variedad de actividades biológicas como antimicrobiana, fungicida, citotóxica y antiviral. Se ha reportado que un lindenano, el onoseriólido, resultó activo contra amastigotes de *Leishmania amazonensis* y *L. infantum* (EC50 de 19.8 y 20.9 μ M, respectivamente), presentando a su vez una baja citotoxicidad hacia las células hospedadoras. Dado este antecedente, nos propusimos evaluar la actividad tripanocida de lactonas sesquiterpénicas sobre cultivos de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*. Para ello, el onoseriólido y otros dos sesquiterpenos estructuralmente relacionados, se purificaron a partir del extracto polar de las raíces de *Hyalis argentea* var. *Latisquama*. Se realizaron curvas de crecimiento en respuesta a dosis crecientes (rango de 1 a 6 μ g/mL), empleando Benznidazol como control positivo. Los resultados demostraron que a las 72 hs ya se observaban diferencias significativas entre el control y al menos uno de los tratamientos. En particular, la EC50 calculada para el onoseriólido fue de 1.87 μ g/mL.

ByBM22- BIOSYNTHESIS OF SUMOYLATED PROTEINS IN BACTERIA USING THE *TRYPANOSOMA BRUCEI* ENZYMATIC SYSTEM

Paula A. Iribarren, María A. Berazategui, Juan J. Cazzulo, Vanina E. Alvarez.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús "Dr. Rodolfo A. Ugalde" IIB-INTECH / UNSAM-CONICET. E-mail: piribarren@iibintech.com.ar

Post-translational modification with the Small Ubiquitin-like Modifier (SUMO) is conserved in eukaryotic organisms and plays important regulatory roles in proteins affecting diverse cellular processes. In *Trypanosoma brucei*, member of one of the earliest branches in eukaryotic evolution, SUMO is essential for normal cell cycle progression and is likely involved in the epigenetic control of genes crucial for parasite survival, such as those encoding the variant surface glycoproteins. Molecular pathways modulated by SUMO have started to be discovered by proteomic studies; however, characterization of functional consequences is limited to a reduced number of targets. Here we present a bacterial strain engineered to produce SUMOylated proteins, by transferring SUMO from *T. brucei* together with the enzymes essential for its activation and conjugation. Due to the lack of background in *E. coli*, this system is useful to express and identify SUMOylated proteins directly in cell lysates by immunoblotting, and SUMOylated targets can be eventually purified for biochemical or structural studies. We applied this strategy to describe the ability of TbSUMO to form chains in vitro and to detect SUMOylation of a model substrate, PCNA both from *Saccharomyces cerevisiae* and from *T. brucei*. To further validate targets, we applied an in vitro deconjugation assay using the *T. brucei* SUMO-specific protease capable to revert the pattern of modification. This system represents a valuable tool for target validation, mutant generation and functional studies of SUMOylated proteins in trypanosomatids.

ByBM23- TA-TRIMS: LOS PRIMEROS ELEMENTOS MÓVILES NO AUTÓNOMOS CARACTERIZADOS EN TAENIDOS

Santiago E Radío⁽¹⁾, Uriel Koziol⁽²⁾, Magdalena Zarowiecki⁽³⁾, Klaus Brehm⁽⁴⁾, Cecilia Fernández⁽⁵⁾, Pablo Smircich⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Interacciones Moleculares. Facultad de Ciencias. Departamento de Genética. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. ⁽²⁾University of Würzburg, Institute of Hygiene and Microbiology, Josef-Schneider-Strasse 2, D-97080 Würzburg, Germany; ⁽³⁾Universidad de la República, Facultad de Ciencias, Sección Bioquímica y Biología Molecular, Montevideo, Uruguay. ⁽⁴⁾Parasite Genomics, Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SA, UK. ⁽⁵⁾Universidad de la República, Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, Montevideo, Uruguay. E-mail: sradio91@gmail.com

Los datos emergentes de genomas de varios tipos de organismos eucariotas confirman que una porción significativa de los mismos está compuesta por elementos transponibles (TEs). Los cestodos taenidos (incluidos los parásitos humanos *Echinococcus* y *Taenia solium*) tienen un número muy bajo TEs con respecto a eucariotas de tamaño genómico similar. Estos elementos se encuentran virtualmente inexplorados, habiendo escasos datos acerca de su expresión y silenciamiento, sin embargo debido al rol evolutivo que cumplen en otros platelmintos su estudio es de vital importancia. El análisis del transcriptoma de *E. granulosus* mostró que los ESTs más abundantes en varios estadios corresponden a ARNnc. En el presente trabajo, reportamos el descubrimiento de una novel familia de retrotransposones del tipo "Terminal Repeat

Retroransposons in Miniature" (TRIMs), siendo esta una nueva familia de elementos transponibles en taenidos la cual hemos denominado ta-TRIMs. ta-TRIMs son la segunda familia de TRIMs descubierta en animales, y probablemente estas familias sean el resultado de evolución reductiva convergente en diferentes grupos taxonómicos. Estos elementos se han originado en la base del árbol filogenético de los taenidos y se han expandido durante la divergencia taenida, incluso luego de la separación de especies cercanas como *E. multilocularis* y *E. granulosus*. Los ta-TRIMs son masivamente expresados en estadios larvarios a partir de una pequeña población de elementos ta-TRIMs completos y LTRs aislados. Estos últimos son capaces de actuar como promotores alternativos que influyen en la expresión de regiones cercanas, generando nuevos ARN no codificantes y fusiones transcripcionales con genes codificantes. En *E. multilocularis*, los ta-TRIMs son específicamente expresados en las células germinativas durante la reproducción asexual del metacestodo larvario.

ByBM24- ESTRUCTURA TERCIARIA Y COMPOSICION OLIGOMERICA DE LAS DOS ISOFORMAS DE LA RIBULOSA-5-FOSFATO EPIMERASA DEL CLON CL BRENER DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Soledad N. Gonzalez⁽¹⁾, Wanda Valsecchi⁽²⁾, Dante Maugeri⁽¹⁾, Jose M. Delfino⁽²⁾, Juan J. Cazzulo⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, IIB-INTECH, UNSAM-CONICET. ⁽²⁾IQUIFIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA-CONICET. E-mail: sgonzalez@iibintech.com.ar

La Ribulosa 5-fosfato Epimerasa (RPE), es una enzima de la rama no oxidativa de la Vía de las Pentosas Fosfato (VPF), que cataliza la interconversión de ribulosa 5-fosfato y xilulosa-5-fosfato. La VPF se encuentra implicada en la protección del parásito contra el estrés oxidativo, dado que constituye una de las principales fuentes del NADPH y aporta precursores para la síntesis de nucleótidos y para la generación de ATP de ser necesario. El genoma del clon CL Brener de *T. cruzi* posee dos genes que codifican para RPEs, con una identidad de secuencia del 52%; uno de ellos (TcRPE2) posee una señal putativa de direccionamiento al glicosoma de tipo PTS1 (SHL) en su extremo C-terminal. Previamente en nuestro laboratorio ambas TcRPEs recombinantes fueron caracterizadas, observándose para TcRPE1 un comportamiento cooperativo con un S_{0.5} de 0,3mM, y para TcRPE2 un comportamiento michaeliano con un KM de 2,5mM. Además se determinó una localización citosólica para TcRPE1, mientras que TcRPE2 se observó particulada y colocalizando previsiblemente con el marcador glicosomal PEPCK. El objetivo de este trabajo fue explorar la estructura terciaria y cuaternaria de ambas TcRPEs recombinantes. Para ello se desarrollaron modelos moleculares basados en similitud de secuencia y, mediante la técnica de SEC-FPLC-LS, se determinó la presencia de múltiples estados de oligomerización con actividad RPE para cada isoforma. Se determinaron PM de 200, 160, 110, y 53 kDa para TcRPE1 (octámero, hexámero, tetrámero, y dímero respectivamente) y de 109 y 60 kDa para TcRPE2 (tetrámero y dímero). Empleando un anticuerpo capaz de reconocer a la enzima natural TcRPE1, pero no a TcRPE2, se vio que la misma se encuentra presente en todos los estadios del parásito, siendo notoriamente abundante en tripomastigotes. Llamativamente utilizando un sistema de sobreexpresión en el clon CL Brener de *T. cruzi*, se observó un efecto positivo de la sobreexpresión de TcRPE1 en el crecimiento de epimastigotes en cultivo.

ByBM25- EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE CARGA PARASITARIA DE *TRYPANOSOMA CRUZI*, CON LA CARDIOPATÍA CHAGÁSICA

Raul H Lucero⁽¹⁾, Bettina L Brusés⁽¹⁾, Laura B Formichelli⁽¹⁾, Gerardo D Deluca⁽²⁾, Gustavo J Fernández⁽¹⁾, Daniel O Hernández⁽³⁾, Carolina I Cura⁽⁴⁾, Alejandro G Schijman⁽⁴⁾

⁽¹⁾Instituto de Medicina Regional-UNNE. ⁽²⁾Laboratorio de Aplicaciones Moleculares -Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología de la Facultad de Medicina de la UNNE. ⁽³⁾Consultorio de Chagas- Facultad de Medicina –UNNE. ⁽⁴⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, Instituto de Ingeniería Genética y Biología Molecular Dr Héctor Torres (INGEBI-CONICET). E-mail: rhlucero@hotmail.com

La enfermedad de Chagas, pese a los grandes avances logrados en su control, sigue siendo un trascendente problema de salud pública en América Latina. La PCR cuantitativa (qPCR) requiere estudios de validación analítica antes de su uso clínico. Se trata de reproducir la técnica de PCR Multiplex en tiempo real con sondas TaqMan para la cuantificación simultánea de *Trypanosoma cruzi* y un Control Interno de Amplificación (IAC) y correlacionar los resultados con los hallazgos electrocardiográficos en pacientes con enfermedad de Chagas crónica. Se estudiaron 62 pacientes con serología reactiva (HAI y ELISA) y PCR convencional dirigida al kADN. Aquellos pacientes con PCR-kDNA positiva fueron estudiados mediante qPCR Multiplex con sondas TaqMan (Duffy y col. 2013). El plásmido recombinante pZErO-2 fue utilizado como control de amplificación interno de amplificación heterólogo (IAC). La extracción de ADN fue realizada mediante el método CTAB. A todos los pacientes se les realizó en terreno, Electrocardiograma de 12 derivaciones. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa EpiInfo. Los 62 pacientes se dividieron en dos grupos de 31. El grupo N con electrocardiograma normal y el grupo A con cardiopatía según la clasificación de Kuschnir (grupos 1, 2 y 3 juntos). No se obtuvieron valores outliers para el IAC, indicando que la extracción por CTAB seguida de la qPCR resultó adecuada en todas las muestras analizadas. La comparación de las medias de ambos grupos, demostró que no existirían diferencias significativas (p: 0,968057) en las cargas parasitarias entre cardiopatas y no cardiopatas. Los resultados obtenidos concuerdan con los

allazgos de Ramírez JC y col, 2015, donde no se encontraron diferencias significativas entre las cargas parasitarias de pacientes crónicos sintomáticos y asintomáticos. Una vez calculados los límites de detección y cuantificación para CTAB podremos evaluar la significación de las cargas parasitarias.

ByBM26-CO1- TOXOPLASMA GONDII TGJ1 (TYPE I HSP40) RELOCALIZES TO PARASITE PELLICLE DURING GLIDING

Jonathan Múnera López, MJ Figueras, María Corvi, Sergio O Angel.

IIB-INTECH. E-mail: jonathanmunera@intech.gov.ar

The heat shock protein 40 (Hsp40) belongs to the stress-associated family of proteins also named J-family because of its J-domain. Hsp40s helps another chaperone, Hsp70, to bind to the client proteins stimulating its ATPase activity. The Hsp40 type I -Ydj1 or Hdj2, yeast and human respectively- participates in the Hsp90-heterocomplex assembly and maturation of client proteins as well. Hsp40 proteins participate in diverse cellular process such as protein folding, protein translocation across membranes, cellular signal transduction, DNA replication and protein degradation. Here we characterized a type I Hsp40 from *Toxoplasma gondii* named TGj1. The amino acid sequence analysis indicates that it is a homolog of Ydj1/Hdj2 proteins. It was expressed in *E. coli* as a recombinant protein, purified and used to obtain a polyclonal antibody in mouse (anti-TGj1). In order to determine the TGj1 protein-protein interacting (PPI) network, the chaperone was subjected to immunoprecipitation (IP) and mass spectrometry (MS) analysis, obtaining 86 proteins which comprise several subcellular localizations and biological functions. Among them we have explored those involved in parasite movement (gliding) and invasion, both processes linked by same machinery (glideosome). By immunolocalization analysis it was observed that during gliding TGj1 relocalizes to the parasite pellicle facing the cytoplasm. However this relocalization is not observed during host-cell invasion. Together, these data indicate that TGj1 could have a role during parasite gliding. In the future, it is planned to perform gene deletion and generation of mutants in the TGj1 farnesyl (CaaX) site to determine the role and importance of this chaperone and its farnesylation in gliding and invasion.

ByBM27- IDENTIFICACIÓN Y ESTUDIOS DE EXPRESIÓN DEL GEN RELOJ PERIOD EN INSECTOS VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

María Stroppa, Ignacio Gimenez, Carlota S Carriazo, Beatriz A García.

INICSA (CONICET) y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. E-mail: mercedesstroppa@hotmail.com

Las actividades y procesos fisiológicos responden a ritmos biológicos oscilatorios fundamentales, en los que los genes reloj están implicados. Con el propósito de realizar estudios moleculares del reloj circadiano en insectos vectores de la enfermedad de Chagas, se inició el estudio con la identificación y análisis de la secuencia del gen reloj period (*per*) en el genoma de *Rhodnius prolixus* mediante la utilización de herramientas bioinformáticas. Posteriormente se amplificó un fragmento de 200 pb del gen *per* en *Triatoma infestans* y *R. prolixus* con el que se llevó a cabo un análisis filogenético con otras especies de insectos. Por otra parte, se determinó su patrón de expresión diaria a nivel de transcripción por RT-PCR semicuantitativa en tejido nervioso de *T. infestans* adultos, bajo condiciones de fotoperíodo (LO) y luz constante (LL). En el genoma de *R. prolixus* se identificaron 11 regiones codificantes correspondientes al gen *per* que presentan un 50% de homología con respecto a otras especies de insectos. En las secuencias de aminoácidos deducida de esas regiones se identificaron dominios conservados de importancia funcional. El árbol filogenético agrupó a *T. infestans* y *R. prolixus* con otras especies de hemipteros, *Riptortus pedestris* y *Pyrrhocoris apterus*. El patrón de expresión del gen *per* a nivel transcripcional mostró un pico al atardecer en el grupo LO, no observándose diferencias significativas en relación al sexo. Este aumento de ARNm del gen *per* concuerda a lo descrito en *Drosophila melanogaster* y sería compatible con la oscilación diaria en los niveles de la proteína PER encontrada por otros autores en *R. prolixus*. Por otra parte, ni en machos ni en hembras del grupo LL se observaron cambios en los niveles de expresión del gen *per*. Este resultado evidencia la acción disruptiva de la luz sobre el ritmo de transcripción del gen *per*.

ByBM28- ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DEL TRANSPORTE DE PROLINA EN TRYPANOSOMA CRUZI

Melisa M Sayé, Chantal Reigada, Mariana R Miranda, Edward Valera Vera, Fabio di Girolamo, Claudio A Pereira.

Laboratorio de Parasitología Molecular, IDIM-CONICET. E-Mail: melisa.msaye@hotmail.com

En tripanosomátidos, la prolina es un aminoácido relevante dado que constituye una fuente de carbono y energía alternativa a la glucosa. Además en *Trypanosoma cruzi* se ha demostrado que la prolina confiere resistencia ante estrés osmótico y que sustenta la invasión celular en tripomastigotes metacíclicos y la progresión del ciclo intracelular. Asimismo se ha establecido que la acumulación de prolina libre intracelular constituye un mecanismo de resistencia a estrés oxidativo. Hemos generado un modelo transgénico de *T. cruzi* que sobre-expresa el transportador de prolina, llamado

Tc069, y hemos relacionado el aumento en la concentración intracelular de prolina en estos parásitos con mayor resistencia a estrés oxidativo (44% y 112% más resistentes para H₂O₂ y NO*) y a drogas tripanocidas (125% y 68% más para nifurtimox y benznidazol). También hemos estudiado la regulación de la permeasa Tc069, y hemos encontrado que tanto la actividad y la expresión de la proteína Tc069 como su localización subcelular varían a lo largo de la curva de crecimiento. El transporte de prolina, al igual que la expresión de la permeasa, presenta su máximo nivel al inicio de la fase logarítmica (322pmol/min) y luego decae a valores nulos en la fase estacionaria, indicando la importancia de este aminoácido en el crecimiento del parásito. Además hemos observado que el transporte de prolina no es regulado por la disponibilidad de sustrato, y hemos estudiado dicho transporte en parásitos Tc069 incubados en distintas condiciones de cultivo, como medio condicionado o diferentes densidades celulares. Tanto los parásitos en medio condicionado como los concentrados en medio fresco presentaron menor transporte de prolina y menor expresión de la permeasa Tc069 que los controles. Nuestros resultados parecen indicar que la regulación del transporte de prolina y su permeasa Tc069 está asociada en parte al menos a la densidad del cultivo de *Trypanosoma cruzi*.

ByBM29- IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DEL GEN NADPH CITOCROMO P450 REDUCTASA EN TRIATOMA INFESTANS

Carla G Grosso, María M Stroppa, Beatriz A García.

INICSA (CONICET) y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. E-mail: bgarcia@biomed.uncor.edu

Entre los mecanismos que confieren resistencia a insecticidas se ha descrito el que provoca un aumento de la actividad de enzimas responsables de su metabolismo. Las evidencias sugieren que las enzimas mono-oxigenasas citocromo P450 tienen comúnmente un rol primario en la resistencia a insecticidas piretroides. El gen NADPH citocromo P450 reductasa (CPR) codifica para una enzima que actúa en la transferencia de electrones desde la forma reducida de NADPH a los citocromos P450. Con el propósito de investigar la participación de los citocromos P450 en la resistencia a insecticidas piretroides en el vector de la enfermedad de Chagas *Triatoma infestans*, se inició el estudio con el aislamiento de ADN copia (ADNc) del gen CPR mediante la técnica de RT-PCR. A partir de la secuencia ADNc del gen se diseñaron *primers* específicos y una sonda Taqman para la determinación de su expresión mediante la técnica de PCR en Tiempo Real. Las determinaciones de expresión se llevaron a cabo a partir de ARN total extraído de pools de cuerpo gordo de ninfas V provenientes de una colonia de laboratorio susceptible a deltametrina en distintos intervalos de tiempo después de la aplicación tópica de la dosis letal 50% (DL50) del principio activo deltametrina. Los resultados obtenidos muestran que los niveles de ARNm del gen CPR se incrementan después de la aplicación de insecticida en relación a lo detectado en los individuos no expuestos. Además, el análisis comparativo de la expresión del gen CPR de grupos de ninfas V no expuestas a deltametrina provenientes de diferentes poblaciones, reveló sobre-expresión del gen en una población resistente al insecticida. Estos resultados indicarían la participación de los citocromos P450 en el desarrollo de la resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans*.

ByBM30-CO4- ANÁLISIS DE LA SECRECIÓN DE VESÍCULAS EXTRACELULARES EN MESOCESTOIDES CORTI

María E Ancarola⁽¹⁾, Antonio Marcilla⁽²⁾, Carolina Poncini⁽¹⁾, Mara Rosenzvit⁽¹⁾, Marcela Cucher⁽¹⁾.

⁽¹⁾IMPAM, Universidad de Buenos Aires. ⁽²⁾Departamento de Biología Celular y Parasitología, Universidad de Valencia. E-mail: meancarola@gmail.com

Introducción: Los parásitos cestodes son platelmintos que infectan casi todas las especies de vertebrados. Entre las enfermedades que producen se encuentran la hidatidosis y la cisticercosis consideradas enfermedades desatendidas prioritarias según la OMS. Recientemente se ha demostrado que los nematodos y trematodos parásitos secretan vesículas extracelulares (VEs) las cuales pueden ser internalizadas por células del hospedero. En la actualidad las VEs son consideradas vehículos importantes en la comunicación intercelular ya que transportan distintos tipos de componentes, entre ellos ácidos nucleicos como microRNAs (miRNAs) que pueden alterar el perfil transcripcional y el fenotipo de la célula receptora. Objetivo: Determinar si el cestode *Mesocestoides corti* secreta VEs y de ser así, analizar si las mismas contienen ARN incluyendo miRNAs. Resultados: Se cultivaron tetratiridios de *M. corti*. Luego de procesar los medios de cultivo mediante centrifugación diferencial se determinó la presencia de VEs por microscopía electrónica. Se observó que *M. corti* secreta VEs de 40-300 nm de diámetro y que las mismas co-sedimentan con ARN, el cual presenta un perfil de tamaños compatible con ARNs pequeños (20-200 nt). La detección de ARN no se vio afectada al incubar las VEs con proteinasa y ARNasa previo a la extracción, en cambio no se detectó ARN en las muestras de VEs tratadas con SDS, proteinasa y ARNasa lo que indica su localización intravesicular. Se corroboró la presencia de miRNAs intravesiculares mediante RT-PCR. Conclusiones: los tetratiridios de *M. corti* secretan VEs de diversos tamaños, las cuales poseen ARNs pequeños, en particular miRNAs. La secreción de VEs en cestodes puede constituir una nueva vía de comunicación intercelular, tanto entre individuos de la misma especie como entre parásitos y hospedero. Profundizar en el estudio de la biología celular de las infecciones parasitarias permitirá mejorar las estrategias de tratamiento y/o control de la transmisión.

ByBM31- ESTUDIO DE ENZIMAS DESACETILASAS DE HISTONAS EN PARÁSITOS CESTODES

Hugo R Vaca⁽¹⁾, Federico Camicia⁽¹⁾, Lucas Maldonado⁽¹⁾, Natalia Macchiaroli⁽¹⁾, Matías G Pérez⁽¹⁾, Gabriel Avila⁽¹⁾, Marcela Cucher⁽¹⁾, Laura Kamenetzky⁽¹⁾, Guilherme Oliveira⁽²⁾, Mara Rosenzvit⁽¹⁾.

⁽¹⁾IMPpM-UBA-CONICET. ⁽²⁾INCTs-CPqRR-Fiocruz-Brazil. E-mail: HugoVaca2011@gmail.com

Las zoonosis parasitarias producidas por cestodes poseen un gran impacto en la salud y la economía de nuestra región. Estas enfermedades son consideradas desatendidas por la OMS. Los cestodes parasitan casi todas las especies de vertebrados y poseen ciclos biológicos complejos. Durante las transiciones entre estadios se producen cambios drásticos a nivel morfológico y fisiológico. La regulación epigenética podría constituir un mecanismo clave en la modulación del desarrollo y la diferenciación celular en cestodes, como ocurre en otros parásitos helmintos. En este contexto, las enzimas modificadoras de histonas podrían representar nuevos blancos quimioterapéuticos cuyo estudio no se ha abordado hasta el momento en estos parásitos. El objetivo de este trabajo es estudiar enzimas desacetilasas de histonas (HDACs) en *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1), *Echinococcus multilocularis* y *Mesocestoides corti*. Mediante análisis in silico de los genomas de estos cestodes se comprobó la presencia de genes que codifican para HDACs, de clases I, II y III. Los alineamientos con HDACs de *Homo sapiens* y del parásito trematode *Schistosoma mansoni* mostraron la conservación de residuos implicados en el mecanismo catalítico. Asimismo, los residuos asociados con la unión a Tricostatina A (TSA), un inhibidor específico de HDACs de clases I y II, se encuentran conservados. A partir de datos de RNAseq se confirmó la expresión de proteínas de esta familia en estadios clínicamente relevantes de *E. granulosus* y *E. multilocularis*. Por último, el cultivo de tetratiridios de *M. corti* en presencia de inhibidores de HDACs de clases I y II, como TSA, mostró una disminución de la viabilidad, así como efectos en el desarrollo, en comparación con parásitos no tratados. La caracterización de HDACs en cestodes ayudará a comprender los mecanismos que regulan su desarrollo y evaluar a estas enzimas como blancos terapéuticos en la búsqueda de nuevas drogas antihelmínticas.

ByBM32- LA SOBRE-EXPRESIÓN DEL BROMODOMINIO 3 DE T. CRUZI AFECTA SU DIFERENCIACIÓN E INFECTIVIDAD Y DISMINUYE SU SENSIBILIDAD A INHIBIDORES DE BROMODOMINIOS

Victoria L Alonso⁽¹⁾, Pamela Cribb⁽²⁾, Carla Ritagliati⁽²⁾, Esteban Serra⁽¹⁾.

⁽¹⁾Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. ⁽²⁾Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. IBR-CONICET. E-mail: alonso@ibr.gov.ar

El factor Bromodominio 3 de *Trypanosoma cruzi* (TcBDF3) es una proteína con un bromodominio en su extremo N-terminal. Este dominio tiene la capacidad de unir lisinas acetiladas y representa un módulo evolutivamente conservado presente casi exclusivamente en proteínas de localización nuclear. En trabajos previos, mediante inmunofluorescencia y microscopía electrónica determinamos que TcBDF3, en amastigotes y epimastigotes, se localiza en todo el cuerpo celular del parásito; observándose más intensamente marcada la región del bolsillo flagelar y el flagelo. En tripomastigotes la localización cambia totalmente y observamos a TcBDF3 se acumula solo en el flagelo. Además, demostramos que esta proteína interacciona con tubulina α acetilada presente en el citoesqueleto y el flagelo de *T. cruzi*. Para estudiar la función de esta proteína en *T. cruzi* se diseñó una versión de TcBDF3 doble mutante la cual es incapaz de interaccionar con péptidos de tubulina acetilada. Al sobre-expresar en epimastigotes de manera inducible esta doble mutante puntual observamos una disminución en la tasa de crecimiento de epimastigotes así como una disminución marcada en las tasas de metacicloogénesis. Al realizar ensayos de infección en células Vero observamos diferentes fenotipos asociados a la sobre-expresión de la versión salvaje y la doble mutante. Paralelamente determinamos que existen inhibidores de bromodominios, desarrollados contra bromodominios humanos, que tienen un efecto deletéreo sobre los epimastigotes de la cepa Dm28c. Entonces, estudiamos el efecto estos inhibidores sobre los parásitos que sobre-expresan TcBDF3 y observamos una recuperación del crecimiento en comparación con los parásitos salvajes. Estos resultados permiten concluir que TcBDF3 está involucrado en el proceso de diferenciación e infección en *T. cruzi* y que los bromodominios podrían ser un blanco quimioterapéutico atractivo contra la Enfermedad de Chagas.

ByBM33- IDENTIFICATION OF HOMOLOGOUS RECOMBINATION MACHINERY IN TOXOPLASMA GONDII

Ignacio M Fenoy, Silvina S Bogado, Susana M Contreras, Sergio O Ángel.

IIB-INTECH. E-mail: ifenoy@intech.gov.ar

Toxoplasma gondii is a medical and veterinary relevant pathogen of phylum Apicomplexa. In humans, asexual replication is characterized by two forms: the rapidly growing 'tachyzoites', sensitive to host immune system and several drugs, and the slowly dividing encysted 'bradyzoites' that evade both the host immune response and anti-toxoplasma drugs. Notably, tachyzoites replicate with a doubling time of 5 -9 hours. Such quick and uninterrupted rounds of DNA replication might trigger replication stress as suggested by the observation of increased basal levels of the replication-stress marker \square H2A.X

in *T. gondii* tachyzoite. DNA replication and damage repair machinery is poorly characterized in *T. gondii*. In the present work we aim to identify the homologous recombination (HR) machinery in *T. gondii*. For this, we performed an in silico study for proteins involved in HR in www.toxodb.org database. For the search we used the well characterized proteins of *Saccharomyces cerevisiae* and Human. We look for sequence homology by BLAST analysis and the presence of correct protein domains. We found 50 proteins conserved of a pool of 90 well-known proteins. These proteins include the core machinery implicated in HR Mre11, Rad50, Exo1 exonuclease, Rad51, Mre11, EXO, BLM and RecQ helicases. Proteins containing a BRCA1 C terminus (BRCT) domain such as BRCA1, 53BP1 or Rad9/Crb2 were not identified. However, by using a different approach by means of the BRCT domain amino acid sequence of human BRCA1, we identified an hypothetical protein that could represent a putative BRCT domain (near 53 residues) containing protein. In conclusion, we found that basic machinery is conserved in *T. gondii*, but many proteins involved in double strand break recognition and HR repair are poorly conserved and represent an interesting field for futures studies in *T. gondii* biology.

ByBM35- EL SILENCIAMIENTO DE TbRRM1 EN Trypanosoma brucei GENERA FENOTIPOS ANORMALES QUE SON IRREVERSIBLES LUEGO DE LAS 6H POST-INDUCCIÓN

Carolina P Bañuelos, Analía G Nittolo, Daniel O Sánchez, Gabriela V Levy.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas “Dr. Rodolfo Ugalde” (IIB-INTECH), UNSAM-CONICET. E-mail: caropau86@gmail.com

TbRRM1 es una proteína esencial de *T. brucei* perteneciente a la familia de proteínas SR-relacionadas. En nuestro laboratorio hemos demostrado que su RNAi inducido por tetraciclina (Tet) altera la progresión del ciclo celular en el estadio procíclico, arrojando a las células en la fase G1 24h post-inducción. Este arresto se manifiesta morfológicamente con la aparición de un fenotipo anormal denominado “nozzle”, en el cual los parásitos presentan un alargamiento significativo del extremo posterior. Para investigar con mayor detalle la alteración del ciclo celular, se estudió la disposición y configuración de núcleos y kinetoplastos (NK). Los resultados indicaron que luego de 24h post-inducción del RNAi de TbRRM1, comienzan a surgir dos poblaciones celulares con configuraciones aberrantes: ON1K (zooides) y 2N1K. La presencia simultánea de ambas configuraciones sugiere que algunos parásitos son capaces de completar la división celular a pesar de presentar alteraciones durante la mitosis o el posicionamiento nuclear post-mitótico. Por otro lado, tanto en la población total como en la subpoblación nozzle, se observó un aumento significativo de células 2N2K con ubicación NK anormal que podrían ser progenitoras de las células que presentan las configuraciones aberrantes mencionadas anteriormente. Finalmente, mediante la remoción de Tet, se determinó que 6h de inducción son suficientes para que los efectos producidos por el RNAi de TbRRM1 sean irreversibles. Por el contrario, la remoción de Tet luego de 3h de inducción, permite la recuperación parcial de la población ya que se observa un aumento significativo en el crecimiento a partir de las 48h post-reversión. Sorprendentemente, se observaron configuraciones NK aberrantes diferentes a las detalladas anteriormente, sugiriendo que en ausencia de Tet, habría un intento, aunque insuficiente, de recuperación, corroborando el rol directo o indirecto de TbRRM1 sobre la progresión normal del ciclo celular.

ByBM36-CO5- TRYPANOSOMA CRUZI PROTEIN LIPOILATION PATTERN IS MODIFIED BY THE LIPOATE BIOSYNTHESIS/SALVAGE INHIBITOR 8-BROMO-OCTANOATE AND ITS METHYL DERIVATIVE

Paola Vacchina, Daniel A Lambruschi, Antonio D Uttaro.

IBR-CONICET. E-mail: paola_vacchina@yahoo.com.ar

Lipoic acid (LA) is a versatile compound that acts as a cofactor of the α -ketoacid dehydrogenase complexes (α -KADHs) and of the glycine cleavage complex (GCC). As these enzymatic complexes are essential to the cell, LA biosynthesis and the protein lipoylation mechanism are potential chemotherapeutic candidates against parasites as *Trypanosoma cruzi* and *T. brucei*. Many organisms have LA salvage pathways by which they scavenge free LA from their environment and lipoylate proteins using lipoate: protein ligase enzymes. We have previously proved that, similar to what is observed in yeast and *T. brucei*, *T. cruzi* lacks of an active LA salvage mechanism. As a direct consequence of this we have detected a difference in susceptibility to the treatment with the non-permeable inhibitor 8-bromo-octanoate (BrO) versus the permeable methyl-bromo-octanoate (MBrO). While *T. cruzi* epimastigote cultures incubated with BrO presented an EC50 value of 1mM, parasites treated with MBrO required 10 times less drug (100 μ M) to show the same deleterious effect. A notable result of both treatments was the drastic reduction of lipoylated proteins, although the reduction was more important in parasite extracts obtained after MBrO incubation. In addition, we have observed that the *T. cruzi* protein lipoylation pattern can be regulated by growth conditions. Altogether, our results support the hypothesis that LA metabolism is essential for the parasite survival and validates the lipoylation pathway as a new drug target.

BYBM37-CO1- ADAPTACIÓN DE *TRYPANOSOMA VIVAX* AMERICANO A LA TRANSMISIÓN MECÁNICA: REMODELACIÓN DEL KINETOPLASTO

Gonzalo Greif^(1,*), Matías Rodríguez^(2,*), Armando Reyna-Bello⁽³⁾, Carlos Robello⁽¹⁾⁽⁴⁾, Fernando Alvarez-Valín⁽²⁾

⁽¹⁾Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay. ⁽²⁾Sección Biomatemática, Facultad de Ciencias, Universidad de la República Uruguay. ⁽³⁾Centro de Estudios Biomédicos y Veterinarios, Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez-IDECYT, Caracas, Venezuela. ⁽⁴⁾Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República Uruguay. *Estos autores contribuyeron igualmente al trabajo. E-mail: gonzalo.greif@pasteur.edu.uy

En los tripanosomas africanos, la mitocondria tiene un rol cambiante durante su ciclo de vida. En el insecto vector, debido a la baja concentración de glucosa, los parásitos son dependientes de una mitocondria completamente funcional para obtener energía. Sin embargo, en el hospedero mamífero, rico en nutrientes, los parásitos obtienen energía por glucólisis, y la mitocondria es parcialmente redundante. En este trabajo realizamos un estudio comparativo del genoma mitocondrial en tres cepas de *Trypanosoma vivax* (una de origen Africano que realiza el ciclo de vida completo y dos cepas Americanas que son mecánicamente transmitidas y permanecen únicamente como formas sanguíneas). La cepa Africana presenta un genoma mitocondrial completo y totalmente funcional, mientras que las cepas Americanas han comenzado un proceso de degradación de su genoma mitocondrial (recordemos que la introducción de estos parásitos en América no puede ser mayor a 500 años). Muchos de los genes mitocondriales presentan mutaciones inhabilitantes de su capacidad codificante, y excepto en tres genes (A6-ATPase, RPS12 y MURF2) el editing no ocurre en ninguno de los genes que requieren ser editados para ser traducidos correctamente. Por su parte, en la cepa Africana el *editing* sí ocurre normalmente en todos los genes que lo requieren. Los genes que sí son editados en las cepas Americanas (A6-ATPase y RPS12) juegan un rol esencial también durante la etapa sanguínea de estos parásitos. El análisis de la población de micirculos muestra una diversidad reducida, y se encuentran principalmente aquellos que contiene los ARN_g necesarios para el *editing* de A6-ATPase y RPS12. El hecho de que estos dos genes permanezcan completamente funcionales, opuesto a lo reportado en los *Trypanosoma brucei-like* que restringen su ciclo a la fase sanguínea, junto con otras diferencias, es indicativo que las cepas Americanas de *T. vivax* están siguiendo un novedoso camino evolutivo en su adaptación a la transmisión mecánica.

ByBM38- ROLE OF cAMP IN OXIDATIVE STRESS RESPONSES IN *TRYPANOSOMA CRUZI*

Tamara Sternlieb, Alejandra C Schoijet, María J Figueras, Patricio Genta, Mirtha M Flawiá, Guillermo D Alonso

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI). E-mail: tamara.sternlieb@gmail.com

Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) is a key second messenger in several metabolic pathways. In *Trypanosoma cruzi* it was found to participate in proliferation, differentiation and osmoregulation. Here we explore the role of cAMP in the response to oxidative stress in *T. cruzi* epimastigotes. To determine the role of cAMP in the oxidative stress response, we first set up the conditions for a proliferation measurement method using tritiated thymidine, based on the incorporation of the radioactive nucleotide during DNA replication. Through this technique, we established an optimal work concentration of hydrogen peroxide of 150 μ M, which presents a moderate effect over proliferation, allowing the recovery of the parasites' normal growth 24 h later. Our results suggest a possible protective effect of cAMP analogs (pCPT-AMPC and 8-Bromoadenosine 3',5'-cyclic monophosphate) over the hydrogen peroxide stressed cells. We also generated transgenic parasite lines that overexpress different phosphodiesterases and assessed their involvement in these responses. In the near future, we are going to evaluate the effect of oxidative stress on trypanostigotes infectivity in culture. After incubation of trypanostigotes with hydrogen peroxide, we will infect Vero cells and measure the percentage of infected cells and the number of intracellular amastigotes with Giemsa staining. In addition, we will apply a quantitative colorimetric assay, using the oxidation-reduction indicator resazurin as a dye, to assess viability. Taken together, our results unveil an unknown role for cAMP as a protective regulator against oxidative stress in *T. cruzi* and point to identify potential components of these signaling pathways.

ByBM39- IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AMP-ACTIVATED PROTEIN KINASE IN *TRYPANOSOMA CRUZI*

Tamara Sternlieb, Patricio Genta, Alejandra C Schoijet, María J Figueras, Mirtha M Flawiá, Guillermo D Alonso.

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI). E-mail: tamara.sternlieb@gmail.com

The AMP-activated protein kinase (AMPK) is a heterotrimeric enzyme involved in maintaining energy homeostasis in response to nutrient stress in many organisms. Sequence and structure of its subunits may change between organisms, but they maintain the same function. The α subunit contains a kinase domain as well as a regulatory domain that inhibits the enzyme in the absence of AMP. The β subunit acts as a scaffold for the other components, while the γ subunit is thought to be involved in AMP binding. During the transition from the mammal host to the insect vector, *Trypanosoma cruzi* suffers nutritional stress from the absence of glucose in the insect's midgut. The ability to respond to this stress, allows the parasite to differentiate and survive. Recently, AMPK β and γ subunits have been identified in *Trypanosoma brucei*, and it was shown that they are involved in surface protein expression changes in response to nutritional stress. Nevertheless, the

α subunit couldn't be found. Using conserved domains and secondary structure analysis, we have been able to identify candidate genes for the catalytic subunit of both organisms, named TbAMPK α and TcAMPK α . On the other hand, we have identified the genes corresponding to AMPK β and γ subunits in *T. cruzi* (TcAMPK β and γ), which present significant sequence differences from human AMPK. These three gene sequences were all successfully expressed in *E. coli* attached to a GST tag. Subsequently, this will allow us to purify the recombinant proteins and perform different binding assays. Also, we generated transgenic epimastigotes lines overexpressing TcAMPK γ along with a hemagglutinin tag, which allowed us to determine its co-localization with glycosomes through immunofluorescence assays. Among other objectives, we are trying to elucidate the effects of nutritional stress on the subunits localization and function by starvation assays.

ByBM40- PROTEIN FATTY ACYLATION AFFECTS SEVERAL ASPECTS OF TOXOPLASMA GONDII BIOLOGY

Marina Caballero, Andrés Alonso, Maria Corvi.

IIB-INTECH. E-mail: mcaballero@intech.gov.ar

Protein fatty acylation refers the covalent modification of proteins by long chain fatty acids. This modification plays key roles in cellular signaling pathways, in mediating subcellular targeting and in protein-protein interactions required for activity. It is divided into two categories: myristoylation and palmitoylation. N-myristoylation involves the co- or post-translational attachment of myristate to an N-terminal glycine residue of a protein via a stable amide linkage. We obtained data demonstrating that *T. gondii* expresses one N-myristoyl transferase, enzyme responsible for this modification. Furthermore, myristoylated proteins are predicted to be involved in important events for this parasite such as calcium homeostasis and kinase activity regulation which are critical for invasion and gliding. In parallel, protein palmitoylation typically refers to the covalent attachment of palmitate to cysteine residues via a thioester linkage. Our experimental palmitoylome shows that most of the palmitoylated proteins cluster into groups including metabolic and energy-related processes and protein translation. However, it is evident that the modification affects the majority of cellular functions since we were able to identify proteins involved in signaling, gliding motility, transcription and translation. From our data we can conclude that protein fatty acylation is a widespread modification that affects vital processes of this parasite.

ByBM41- EFFECT OF THE ACTIVATION OF HISTONE DEACETYLATION BY SIR2 ON THE LYTIC CYCLE OF TOXOPLASMA GONDII

Marisol Contreras, Vanina A Campo, Laura Vanagas, Sergio O Angel.

IIB INTECH. E-mail: mcconts@gmail.com

The Telomeric Associated Sequences-Like (TAS-L) found in *T. gondii* are heterochromatic regions that would be associated with specific factors linked to epigenetic silencing mechanisms. One of the major mechanisms regulating the chromatin status is the acetylation and deacetylation of histone lysine residues at the N-terminal tail. Moreover, it is well-known that these regions are associated with histone deacetylases that promote the spreading of TAS-heterochromatin and TAS-associated gene regulation. The principal actor in this scenario is the histone deacetylase type III –dependent of NAD⁺-Sir2. In *T. gondii* a putative Sir2 deacetylase has been identified but its function remains uncharacterized. Here, our goal is to investigate indirectly the function of chromatin deacetylation by Sir2 on replication of the parasite by using drugs. We tested the effects of two inhibitors Sirtinol and Nicotinamide and the activator, Resveratrol, on the sirtuins deacetylase activity. To evaluate the effect of these drugs in *T. gondii* growth, a plaque lysis assay was performed, we measured the lytic cycle of the tachyzoite in a period of 5 days. It was observed that inhibitors did not have significant effects on total lysed area in comparison with untreated. By contrast, tachyzoites under Resveratrol treatment presented a decrease in the size of the lysed area in a dose dependent manner, suggesting an interference with the lytic cycle. In addition, a replication assay in the same conditions was performed, and the number of parasites per parasitophorous vacuole was also counted. In the case of Resveratrol, it was observed a decrease in the number of parasites/vacuole. Moreover, aberrant vacuoles were observed compared with the control. At high doses of Resveratrol a high parasite mortality was observed. In conclusion, the Sir2 activator seems to interfere with DNA replication, remaining to establish the link between such replication phenotype and TAS-L maintenance.

ByBM42- TbRRM1 REGULA LA EXPRESIÓN GÉNICA A NIVEL TRANSCRIPCIONAL EN EL ESTADIO PROCÍCLICO DE TRYPANOSOMA BRUCEI

Gabriela V Levy, Carolina P Bañuelos, Analía G Níttolo, Daniel O Sánchez.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas “Dr. Rodolfo Ugalde” (IIB-INTECH), UNSAM-CONICET. E-mail: glevy@gmail.com

En Trypanosomátidos los genes que codifican para proteínas se agrupan en unidades transcripcionales o policistrones. Debido a esto, la regulación de la expresión génica se da principalmente a nivel postranscripcional a través de la regulación del *trans-splicing* y la estabilidad de los mRNAs mediante proteínas de unión a RNA. TbRRM1 es una proteína de unión a RNA perteneciente a la familia de las SR-relacionadas que es esencial en *T. brucei*. Resultados de nuestro laboratorio mostraron que la depleción de la proteína produce alteraciones fenotípicas, arresto del ciclo celular con compromiso de la síntesis de DNA y muerte de los parásitos por apoptosis. Recientemente, el grupo de Roditi ha demostrado que TbRRM1 se asocia a histonas y a mRNAs nucleares. Por otra parte, también han sugerido que podría intervenir en la modificación de la estructura de la cromatina. En el presente trabajo demostramos mediante experimentos de *Run-on* y RTqPCR que la ausencia de TbRRM1 induce la disminución de la transcripción de su propio gen y de dos genes (TbNOP86 y L38) pertenecientes a un mismo policistrón. Llamativamente, la transcripción de un RNA no codificante (ncRNA) denominado SL-RNA, la cual es dirigida por un promotor Pol-II, se ve aumentada luego de la inducción del RNAi de TbRRM1. Sin embargo, el nivel de transcripción de otro ncRNA denominado 7SL, dependiente de Pol-III, no se ve afectado. Estos datos sugieren que TbRRM1 tendría una función relevante a nivel transcripcional, ya sea incrementando o disminuyendo la transcripción genes dependientes de Pol-II. Actualmente estamos analizando en detalle la transcripción de distintas regiones de un policistrón para determinar a qué nivel TbRRM1 regula la transcripción. En paralelo, mediante la técnica denominada FAIRE (*Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements*), estamos analizando el grado de compactación de la cromatina en las mismas regiones para determinar si ésta correlaciona con el nivel de transcripción.

ByBM43- LA SOBRE-EXPRESIÓN DE LA CICLOFILINA MITOCONDRIAL DE *TRYPANOSOMA CRUZI* PROTEGE AL PARÁSITO DE LOS EFECTOS CAUSADOS POR ESTRÉS OXIDATIVO

Patricia L Bustos⁽¹⁾, Alina E Perrone⁽¹⁾, Natalia A Mildubeger⁽¹⁾⁽²⁾, Jacqueline Bua⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾INP Dr. Mario Fatala Chabén - A.N.L.I.S - C.G. Malbrán. ⁽²⁾CAECIHS, Universidad Abierta Interamericana, Buenos Aires, Argentina. E-mail: pato54mar@yahoo.com.ar

Las ciclofilinas (CyPs) son chaperonas presentes en todos los organismos hasta ahora estudiados. Su actividad es inhibida por la ciclosporina A (CsA). En mamíferos, se describió una CyP mitocondrial (CyPD) que interviene en la formación de un poro que afecta la permeabilidad mitocondrial (mPTP). La apertura sostenida del mPTP es clave en los programas de muerte celular. La sobrecarga de Ca²⁺ y el aumento de las especies reactivas del oxígeno inducen su apertura. La CsA actúa como inhibidor del mPTP por unión a la CyPD y, por lo tanto, de la muerte celular programada. En nuestro laboratorio, hemos descrito que la CsA inhibe eventos de muerte celular en *Trypanosoma cruzi* causados por estrés oxidativo, confirmando que existe una transición de la permeabilidad mitocondrial semejante al mPTP de mamíferos. En *T. cruzi*, la CyP TcCyP21.3 presenta la mayor similitud con la CyPD y se expresa en el mitocondria del parásito. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto específico de la sobre-expresión de TcCyP21.3 en epimastigotes, en condiciones de estrés oxidativo. Se utilizó el vector pTRET-GFP. El estrés oxidativo se generó con H₂O₂ (5mM y 10 mM). Para evaluar el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$), se utilizó MitoTracker CMXRos. Se observó que los parásitos transfectados tuvieron menor disminución de $\Delta\Psi_m$ que los de tipo salvaje (56% y 68% para H₂O₂ 5mM y 75% y 90% para 10mM, respectivamente). Para evaluar la integridad de la membrana plasmática se utilizó Ioduro de Propidio (IP). Se observó mayor marca IP+ en los parásitos de tipo salvaje que en los TcCyP21.3-GFP (20% y 5% para H₂O₂ 10mM durante 60 min y 55.5% y 46% a los 180 min, respectivamente). En conclusión, los epimastigotes que sobre-expresan la TcCyP21.3 son más resistentes al daño causado por el estrés oxidativo. Estos resultados indican que TcCyP21.3 es la ciclofilina mitocondrial involucrada en los eventos de muerte celular que ocurren a través del mPTP en *T. cruzi*./ PICTO-ANLIS 00136/11

ByBM44- ECHINOCOCCUS GRANULOSUS S. S. G1 EN UN ZORRO GRIS PAMPEANO, LYCALOPEX GYMNOERCUS, DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

Nathalia P Scioscia⁽¹⁾, Romina S Petrih⁽²⁾, Martín H Fugassa⁽²⁾, Guillermo M Denegri⁽¹⁾

⁽¹⁾Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP (CONICET). ⁽²⁾Laboratorio de Paleoparasitología, Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP. (CONICET). E-mail: nathyvet@hotmail.com

La Hidatidosis es una zoonosis causada por cestodos del género *Echinococcus*. Poseen una distribución cosmopolita y se pueden transmitir a través de ciclos domésticos, sinantrópicos y silvestres. Existe gran variabilidad fenotípica y genotípica dentro de *E. granulosus*. El análisis filogenético basado en genes mitocondriales y nucleares ha definido un complejo de cuatro especies denominado *E. granulosus sensu lato* (s. l.): *E. granulosus sensu stricto* (G1/G2/G3), *E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5) y *E. canadensis* (G6-7/G8/G10). En la provincia de Buenos Aires (Bs As) la hidatidosis es endémica y los perros son considerados los principales hospedadores definitivos de *E. granulosus* s. l. aunque el rol de los carnívoros silvestres en la transmisión local de esta enfermedad ha sido poco estudiado. El objetivo de este estudio fue identificar molecularmente la especie de *E. granulosus* s. l. hallada en un zorro gris pampeano, uno de los carnívoros más abundantes de las áreas rurales de Bs As. Luego de la inspección de 95 intestinos de zorros, se aislaron 10 cestodos en el intestino delgado de un

zorro gris pampeano de Bs As, que morfológicamente se identificaron como *E. granulosus* s. l. Para la confirmación de la especie de *Echinococcus* se extrajo ADN de 3 parásitos adultos, se amplificó por PCR y se secuenció un fragmento de 450 pb del gen que codifica para la subunidad 1 de la enzima citocromo oxidasa (cox1). El análisis molecular permitió definir la especie como *E. granulosus* s. s. G1. En Argentina, este genotipo es el más frecuentemente hallado el ganado y perros de la región pampeana. Este hallazgo representa el primer reporte de *E. granulosus* s. s. G1 en un carnívoro silvestre del país. A pesar de la baja prevalencia encontrada, deberá evaluarse la importancia de este hallazgo dada la abundancia de este zorro y su posición sinantrópica dentro de los ecosistemas fuertemente antropizados de la región.

ByBM45- ANÁLISIS DE LA VÍA METABÓLICA DE ESFINGOLÍPIDOS EN *TETRAHYMENA THERMOPHILA* E IDENTIFICACIÓN DEL GEN DE UNA ÁCIDO GRASO 2-HIDROXILASA DE ESFINGOLÍPIDOS

Nicolas G Cid, María L Sánchez Granel, Berta C Nudel, Alejandro D Nusblat.

NANOBIOTEC-CONICET/UBA. E-mail: nicocid90@gmail.com

Los esfingolípidos constituyen una familia de lípidos de importancia por su función estructural en la composición de membranas biológicas y por su rol como moléculas bioactivas, pues participan en varios procesos tales como señalización celular, tráfico vesicular y apoptosis. Estos se encuentran presentes en células eucariotas y en algunas bacterias anaerobias como son *Sphingomonas* y *Sphingobacterium*. En los últimos años, el estudio de esfingolípidos tanto en células de mamíferos como invertebrados, hongos y plantas ha contribuido a un avance significativo en este campo. La utilización de otros modelos biológicos posibilitará avanzar aun mas en la investigación. En este sentido los ciliados, como *Tetrahymena thermophila*, son organismos promisorios, pues tienen numerosas ventajas en su utilización, incluyendo complejidad de procesos biológicos, facilidad de cultivo y numerosas herramientas moleculares disponibles. Sin embargo, si bien se han reportado la presencia de estos lípidos en *Tetrahymena*, no se conoce su rol biológico, ni se encuentran identificados los genes involucrados en su metabolismo. El conocimiento de estas funciones permitiría extrapolarlas a células eucariotas más complejas. Mediante búsquedas bioinformáticas se ha construido una vía metabólica de esfingolípidos putativa en el ciliado, identificándose posibles paralogos para la mayoría de las etapas sintéticas involucradas. De estos se procedió a noquear el único gen candidato para una ácido graso 2-hidroxisilasa putativa mediante transformación del macronúcleo por bombardeo biolístico, evidenciándose la pérdida de actividad hidroxisilasa mediante Cromatografía gaseosa, sin observarse otros cambios fenotípicos significativos respecto a la cepa salvaje. La identificación del gen de la enzima ácido graso 2-hidroxisilasa se convierte de esta manera en el primer gen del metabolismo de esfingolípidos en ser identificado, no solo en *T. thermophila*, sino en los ciliados en general.

ByBM46- ROL DE LA SEROTONINA EN EL CONTROL DE LA ACTIVIDAD NEUROMUSCULAR EN *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* Y OTROS PARÁSITOS CESTODES

Federico Camicia⁽¹⁾, Hugo Vaca⁽¹⁾, Laura Kamenetzky⁽¹⁾, Lucas Maldonado⁽¹⁾, Sergio H Simonetta⁽²⁾, Marcela Cucher⁽¹⁾, Mara Rosenzvit⁽¹⁾

⁽¹⁾IMPAM-UBA-CONICET. ⁽²⁾Fundación Instituto Leloir. E-mail: fcamicia@fmed.uba.ar

Los parásitos cestodes conforman una clase diversa de organismos, algunos causan zoonosis consideradas desatendidas de gran impacto en la salud y la economía a nivel local como global. El sistema nervioso es esencial sobre varios componentes de la vida parasítica en los cestodes tales como la percepción sensorial, locomoción, orientación, fijación y reproducción. La secuenciación del genoma y transcriptoma de *E. granulosus*, en la que participó nuestro grupo (Tsai y col., 2013) y la fuerte respuesta motora del estadio larvario o protoescoléx al agregado exógeno del neurotransmisor serotonina (5-HT; Camicia y col., 2013) sugieren la existencia de GPCRs serotoninérgicos en este parásito. En este trabajo se postula que la 5-HT jugaría un rol importante en la actividad neuromuscular en parásitos cestodes en general y que dicho efecto podría estar mediado por receptores acoplados a proteínas G (GPCR) serotoninérgicos. La búsqueda de GPCRs serotoninérgicos a nivel bioinformático en varias especies de cestodes como *Mesocestoides corti*, *Taenia solium*, *E. granulosus* y *Echinococcus multilocularis* permitió el hallazgo de secuencias con identidad con GPCRs que se encuentran conservadas tanto a nivel de los dominios transmembrana como también en los sitios de unión a ligando. El agregado de 5-HT en formas larvarias de *Mesocestoides corti* y *Taenia crassiceps* causó un aumento de motilidad de modo dosis dependiente, medido por un sistema de cuantificación de dispersión de un haz de luz conocido como *wormtracker*. La comparación de las diferentes curvas de motilidad obtenidas entre los distintos parásitos cestodes muestra una respuesta específica de cada especie al neurotransmisor, lo cual sugiere que podría estar mediada por diferentes tipos de GPCRs serotoninérgicos. La realización de este proyecto permitirá identificar genes de importancia para el desarrollo y la supervivencia de parásitos cestodes, que podrán ser evaluados como nuevos blancos quimioterápicos para drogas cestocidas.

ByBM47- IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS CON ANCLAS DE GLICOSILFOSFATIDILINOSITOL (GPI) EN DIFERENTES ESPECIES DEL CILIADO *TETRAHYMENA*

M Guadalupe Montes⁽¹⁾, Eugenia Elguero⁽¹⁾, Clara B Nudel⁽¹⁾, Leonhard Schnittger⁽²⁾, Alejandro D Nusblat⁽¹⁾

⁽¹⁾Instituto de Nanobiotecnología NANOBIOTEC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. ⁽²⁾Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA-Castelar. E-mail: mgmontes@ffyb.uba.ar

En las células eucariotas muchas proteínas de membrana se encuentran ancladas por medio de puentes de glicosilfosfatidilinositol (GPI). Particularmente, en ciliados como *Tetrahymena thermophila* y *Paramecium tetraurelia*, el grupo más representativo de esta clase de proteínas corresponde a los i-antígenos, denominados antígenos de inmovilización en base a sus propiedades inmunológicas, que son expresadas en la membrana plasmática bajo ciertas condiciones de composición de medio de cultivo y temperatura de incubación. *T. thermophila* expresa diferentes tipos de i-antígenos, entre los que se encuentran los H, T y S, pero cuya función no ha sido establecida hasta el momento. Análisis preliminares, con fracciones enriquecidas en proteínas con anclas GPI obtenidas mediante partición en dos fases con detergentes y posterior análisis por espectrometría de masa, nos han permitido identificar en *T. thermophila* una proteína del tipo GPI de aproximadamente 30 kDa, que pertenece a la familia SerH. El objetivo de este trabajo es identificar y evaluar la expresión de proteínas ancladas a la membrana por GPI tanto en *T. thermophila* como en otras especies poco estudiadas hasta ahora como ser *T. borealis*, *T. malaccensis*, *T. pigmentosa* y *T. ellioti* mediante la metodología comentada. Además, se emplearán herramientas bioinformáticas para dilucidar su vía de síntesis e identificar las enzimas involucradas en la misma, ya sea en los pasos de formación del ancla GPI, que podrían tener como precursores a la UDP-GlcNAc y al fosfatidilinositol, como en el anclaje al extremo C-terminal de la proteína.

ByBM48- EVALUACIÓN DE POLIFENOLES COMO POSIBLES INHIBIDORES DE LA ARGININA QUINASA DE *TRYPANOSOMA CRUZI*: DEL DOCKING MOLECULAR A LA ACTIVIDAD TRIPANOCIDA

Edward A Valera Vera, Mariana R Miranda, Melisa Sayé, Chantal Reigada, Claudio A Pereira.

Laboratorio de Parasitología Molecular. Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari (IDIM-CONICET). E-mail: edwardverval@gmail.com

La arginina quinasa (AK) es una enzima de gran importancia en el equilibrio energético de *Trypanosoma cruzi*, así como en la resistencia a distintos tipos de estrés. Por su ausencia en el hospedador mamífero, la AK es un buen blanco quimioterapéutico. Se han reportado pocos inhibidores de esta enzima, en su mayoría pertenecientes al grupo de los polifenoles. Por esta razón se decidió probar en un modelo in silico la unión de diferentes polifenoles hidroxilados al sitio activo de la AK y evaluar el efecto sobre la actividad enzimática y la viabilidad de los parásitos. Las estructuras 3D de los ligandos se obtuvieron de la base de datos de compuestos comerciales ZINC, a las cuales se les minimizó la energía en el servidor PRODRG2. La estructura cristalina de la AK de *T. cruzi* se obtuvo del RCSB PDB y se completaron los residuos faltantes con la AK de *Limulus polyphemus*. Usando el programa AutoDock Tools se ensayaron los diferentes compuestos, fijándose como flexibles los residuos de la AK Ser63, Gly64, Ile65, Tyr68, His315, Glu225, Glu314, Cys271, que han sido reportados como esenciales en la unión o catálisis de la arginina. Los grupos con menor energía se tomaron como formas representativas de la unión de los ligandos. Se compararon las energías libres de unión (ΔG) mínimas de cada complejo enzima-ligando usando como control positivo el complejo AK-arginina. De los ligandos probados, 6 tuvieron un ΔG menor a la del control (-8,11) entre los que figura el resveratrol (-8,33), el cual estaría interactuando con el bolsillo hidrofóbico del sitio activo. Para los ensayos in vitro, inicialmente se eligió el resveratrol y se determinó que inhibe el 60% de la actividad enzimática a una concentración de 100 μ M. La IC50 calculada en epimastigotes de *T. cruzi* fue de 13 μ M al día 5 de cultivo. Este constituye el primer trabajo donde se identifica in silico un inhibidor de la arginina quinasa que no sólo actúa sobre la enzima sino que además posee efecto tripanocida.

ByBM49- EVIDENCIAS BIOQUÍMICAS DE ENZIMAS INVOLUCRADAS EN EL METABOLISMO DE ARGININA EN *PHYTOMONAS JMA*

Laura Fraccaroli⁽¹⁾, M Silvina Marcora⁽²⁾, Darío E Balcazar⁽¹⁾, Carolina Carrillo⁽¹⁾.

⁽¹⁾ICT Milstein - CONICET. ⁽²⁾Fundación Instituto Leloir, IIBBA-CONICET. E-mail: lalyfra@gmail.com

Phytomonas Jma es un parásito tripanosomátido que infecta gran variedad de plantas. En este trabajo avanzamos en el estudio de su metabolismo indagando en la presencia de las enzimas que utilizan arginina como sustrato, enfocándonos en aquellas relacionadas al ciclo de arginina - ornitina: i- Arginina decarboxilasa (ADC), que produce agmatina y CO₂: en ensayos de biosíntesis (*in vivo* e *in vitro*) utilizando arginina marcada, se liberó CO₂ pero no se observó síntesis de agmatina; los niveles de CO₂ no se modificaron en presencia de DFMA, inhibidor específico de ADC. Estas evidencias sugieren la ausencia de ADC en *Phytomonas Jma*. Paralelamente, mediante análisis in silico no se encontraron secuencias putativas de ADC ii- Óxido nítrico sintasa (NOS), que cataliza la formación de citrulina y NO: si bien no se llegó a detectar citrulina sintetizada a partir de arginina marcada (por técnicas electroforéticas), detectamos nitritos (por ensayo de Griess) en

sobrenadantes de *Phytomonas Jma* en presencia de distintas concentraciones de arginina. Esto podría sugerir actividad de NOS, también sugerido por el hallazgo, mediante análisis bioinformático, de una secuencia con un 42% de identidad con la NOS de *Leishmania infantum*. iii- Arginasa, que produce ornitina y urea: la detección de ornitina y, consecuentemente putrescina, a partir de arginina marcada así como la disminución de la producción de urea y CO₂ al incubar con el inhibidor NOHA, sugieren la presencia de arginasa. Como históricamente se ha propuesto la ausencia de arginasa como marcador de especie de *Phytomonas spp*, este resultado puede resultar controversial. Sin embargo, a través de análisis bioinformáticos hallamos una secuencia putativa de arginasa, la cual será clonada y caracterizada funcionalmente como siguiente paso en este trabajo. En conclusión, estos estudios contribuyen al conocimiento de la biología de este tripanosomátido con impacto agrícola en economías regionales.

ByBM50- ANÁLISIS DEL ROL DE LA PROTEÍNA TcAlba30 EN EL CONTROL DE LA EXPRESIÓN DE AMASTINAS EN TRYPANOSOMA CRUZI

Leticia Pérez Díaz⁽¹⁾, Pablo Smircich⁽¹⁾, Santuza MR Teixeira⁽²⁾.

⁽¹⁾ Facultad de Ciencias, UdelaROU. ⁽²⁾ Universidad Federal de Minas Gerais, UFMG. E-mail: lperez@fcien.edu.uy

Las amastinas son una familia de glicoproteínas de superficie que constituyen potenciales factores de virulencia y que fueron inicialmente descritas en amastigotas de *T. cruzi* y *Leishmania sp*. Tanto en *T. cruzi* como en *Leishmania*, su expresión diferencial es el resultado de mecanismos que involucran cambios en la estabilidad del ARNm y/o control traduccional. Aunque se han identificado elementos regulatorios en las regiones 3'UTR del ARNm codificante para amastinas, hasta la fecha, sólo se ha caracterizado una proteína regulatoria en *L. infantum*. Mediante cromatografías de afinidad, se demostró que una proteína con dominio Alba (LiAlba20) era capaz de unirse al 3'UTR del ARNm amastina. Experimentos de knock out, mostraron que LiAlba20 contribuye a la regulación estadío específica modulando la estabilidad de los transcritos amastinas. En este trabajo, investigamos el rol del ortólogo de LiAlba20 en *T. cruzi* en la regulación post-transcripcional de los genes amastinas. Identificamos 2 ortólogos dispuestos en *tándem* (TcAlba30/TcAlba40). Ensayos de *Western blot* y qRT-PCR, mostraron que TcAlba30/40 se expresa a lo largo del ciclo de vida de *T. cruzi*. Generamos parásitos donde se deletó una copia del alelo TcAlba30/40 y parásitos que expresan TcAlba30 fusionada a cMyc. Éstos últimos, se usaron para analizar la interacción TcAlba30-ARNm amastinas mediante inmunoprecipitación y RT-PCR. Ensayos de qRT-PCR, mostraron que los niveles de ARNm amastina se encuentran alterados en los transfectantes. Realizamos análisis de expresión diferencial por RNAseq comparando los parásitos cMycAlba30 con parásitos salvajes. Estos análisis revelan que TcAlba30 modula los niveles de ARNm de otros genes que se localizan juntos en la misma región cromosómica. Análisis de ontología, muestran un enriquecimiento significativo ($p < 0.01$) en los ARNm que codifican para proteínas involucradas en la traducción con muchos transcritos codificando para proteínas ribosomales y factores de traducción.

ByBM51- UTILIZACIÓN DE TETRAHYMENA THERMOPHILA COMO MODELO DE EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA DE ANCLAJE GLICOFOSFATIDILINOSITOL, GP60 DE CRIPTOSPORIDIUM PARVUM

María Eugenia Elguero(1), Mariela Tomazic(2), Guadalupe Montes(1), Clara Nudel(1), Leonhard Schnittger(2), Alejandro Nusblat(1).

(1) Instituto NANOBIOTEC (UBA-CONICET). (2) Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA-Castelar. E-mail: eugeelguero@gmail.com

Cryptosporidium parvum es un protozoo parásito del *phylum* Apicomplexa causante la criptosporidiosis, enfermedad que genera diarreas en terneros neonatos y es responsable de la mortalidad de animales en nuestro país e importantes pérdidas económicas en la actividad ganadera. Uno de los principales determinantes de los diferentes subtipos de *Cryptosporidium* es la proteína de superficie GP60. Esta proteína, al igual que la mayoría de las proteínas de superficie del *phylum*, se encuentran unidas a la membrana por un anclaje de tipo glicofosfatidilinositol (GPI), un glicósido frecuentemente implicado en procesos de reconocimiento, adhesión y/e invasión a las células hospedadoras. Estas características convierten a las proteínas GPI en moléculas esenciales para la supervivencia de los protozoos, ejerciendo un fuerte efecto inmunomodulador en el organismo hospedador, lo que las convierte en candidatos vacunales de gran valor biotecnológico. En este trabajo se realizó la expresión heteróloga del antígeno GP60 de *C. parvum* en el ciliado *Tetrahymena thermophila*, el cual ha demostrado ser capaz de expresar, plegar y procesar correctamente otras proteínas del tipo GPI provenientes de diferentes protozoos parásitos. Para su realización se utilizó la estrategia de transformación en cepas conjugantes de *T. thermophila*, utilizando vectores episomales de ADN ribosómico y expresando la proteína GP60 bajo el promotor de MTT1 inducible por Cadmio. Se evaluó mediante *Western Blot* con anticuerpos específicos la presencia de GP60, y se observó que *T. thermophila* es capaz de procesar esta proteína en una variante de 40 kDa. Esta variante se mantuvo incluso luego del enriquecimiento en fracción GPI indicando que éste ciliado no solo es capaz de expresar sino también de realizar las modificaciones post-traduccionales necesarias para la obtención del antígeno GP60 proveniente de *C. parvum*.

ByBM52- TRYPANOSOMA CRUZI SELECTIVELY TRANSPORT HEME OR HEME ANALOGS ALONG THE DIFFERENT LIFE-CYCLE STAGES

Lucas Pagura, Marcelo L Merli, Brenda A Cirulli, Julia A Cricco.

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET)-Universidad Nacional de Rosario. E-mail: pagura@ibr-conicet.gov.ar

Trypanosoma cruzi lacks all the enzymes involved in heme biosynthesis and must incorporate it from the different hosts to supply for the heme-protein pool. We are interested in elucidating how heme is imported by the *T. cruzi* along its different life-cycle stages. We used fluorescent heme analogs (HAs, PP protoporphyrin and MP mesoporphyrin derivatives) to study heme transport along different life-cycle stages by confocal microscopy and direct measurement of fluorescence. These analogs cannot replace heme functions and for this reason only the imported analogs can cause a negative effect on cell growth. We observed that *T. cruzi* transport heme along the replicative life-cycle stages (epimastigotes and amastigotes) but heme transport was not observed in the trypomastigotes stage. Interestingly, several -but not all- HAs used to test heme transport were efficiently transported by *T. cruzi*. The HAs PP, ZnPP and ZnMP were taken up by the epimastigotes analyzed in this study (Dm28c and CL Brener) causing a deleterious effect on cell growth. The GaPP analog was efficiently imported by Dm28c epimastigotes, but surprisingly CL Brener did not transport it. On the other hand, SnMP was the only one HA not imported, neither by epimastigotes nor amastigotes. However all HAs competed for heme uptake, causing a reduction in the intracellular heme level. These pieces of evidence pointed out SnMP as a good candidate to study the blockage of heme transport in *T. cruzi*. In summary, based on our results we postulate that *T. cruzi* possess a selective transport system that can discriminate between structurally related compounds. The strains analyzed in this work presented a different behavior when they were expose to these HAs. This could be due to some differences in the transport system- different transporters or associated regulatory proteins, different carriers for the intracellular trafficking or differences in the regulation of heme transport.

ByBM53- HEME A SYNTHESIS IS ESSENTIAL FOR TRYPANOSOMA CRUZI INFECTION AND INTRACELLULAR AMASTIGOTE REPLICATION

Marcelo L Merli, Brenda A Cirulli, Lucas Pagura, Julia A Cricco.

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET)-Universidad Nacional de Rosario. E-mail: merli@ibr.gov.ar

Trypanosoma cruzi presents nutritional requirements for heme. We are interested in studying how heme is transported to the parasite mitochondrion and how it is converted into heme A, a cofactor only seen in the cytochrome c oxidase complex (CcO) of the mitochondrial respiratory chain. In our laboratory we have identified the enzymes involved in heme A biosynthesis in *T. cruzi*: TcCox10 (heme O synthase) and TcCox15 (heme A synthase), both enzymes located in the mitochondrion. The genes encoding the WT and non-functional mutant proteins were cloned in the pTcINDEX vector and overexpressed in *T. cruzi* epimastigotes. We did not observe any effects when the mutant TcCOX10 genes were overexpressed but surprisingly the overexpression of the WT TcCOX10 gene caused a deleterious effect on epimastigotes' proliferation. On the other hand, the expression of mutant TcCOX15 genes caused a negative effect on epimastigotes proliferation together with a diminution on heme A levels and in the oxygen consumption. Also we tested how the expression of the mutant TcCOX15 genes affects the infection and the intracellular replication. In these cases, the presence of the mutant non-functional TcCox15 protein negatively affects the cellular infection by trypomastigotes and amastigotes intracellular replication. In summary, being Heme A -like heme- an essential but toxic molecule, its synthesis must be regulated. The overexpression of the first enzyme of the pathway (TcCox10) altered the mitochondrion functions and -as consequence- the parasite proliferation. In addition, the expression of a non-functional TcCOX15 gene caused an inhibition of heme A synthesis (dominant negative effect) also affecting epimastigotes proliferation, trypomastigotes infection and amastigotes intracellular replication. Our results allows us to postulate that heme A synthesis is essential for *T. cruzi*, confirming that this parasite depends on mitochondrial respiratory chain along their different life-cycle stages.

ByBM54- EL USO DEL PROTOZOARIO TETRAHYMENA THERMOPHILA EN LA ENSEÑANZA UNIVERSITARIA

Belén M De Luca, Guadalupe Montes, María L Sánchez Granel, Nicolás Cid, Eugenia Elguero, Carolina Chain, Clara B Nudel, Rodrigo H González, Alejandro D Nusblat

Instituto de Nanobiotecnología NANOBIOTEC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. E-mail: delucamariabelen@gmail.com

En este trabajo se presentan los resultados preliminares sobre el uso del protozoario *T. thermophila*, organismo modelo eucariota, en la enseñanza universitaria. La asignatura "Diseño y optimización de sistemas biológicos", electiva para estudiantes de la carrera de Bioquímica en la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA, tiene como objetivos: Introducir al alumno en el aislamiento y selección de microorganismos; adquirir conocimientos en sistemas de mejora genética; como también en la biología sintética y biotransformación de interés industrial. En el trabajo práctico del curso se estudió el metabolismo de esteroides. Para ello se utilizó al ciliado *T. thermophila* como ejemplo de sistema biológico para la biotransformación de los metabolitos de interés industrial. A partir de una cepa salvaje se analizó la conversión de colesterol a pro-vitamina D3. Como sistema de cultivo se utilizó batch en fermentador, de esta manera se pudo controlar el pH, la temperatura, la oxigenación y la agitación. Los alumnos monitorearon y controlaron el cultivo del ciliado a distancia mediante: escritorio remoto de Windows para PC y IOS. Con la finalidad de modificar la vía metabólica de esteroides y obtener concentraciones variables y/o nuevas moléculas, se utilizaron cepas recombinantes en donde se "noquearon" diferentes enzimas involucradas en la vía de esteroides. Para identificar y medir la concentración de esteroides se utilizó HPLC. La identificación de las diferentes cepas fue mediante PCR genómica. La densidad celular se determinó mediante recuento en cámara de Neubauer. Finalmente, los estudiantes aplicaron la técnica de microscopía de fluorescencia para observar el sustrato, su posible vía de ingreso y la localización de las enzimas. Para este propósito, utilizaron Bodipy-colesterol fluorescente, marcador de fagocitosis y cepas recombinantes en donde se fusionó la proteína fluorescente verde a diferentes enzimas involucradas en el metabolismo de esteroides (desaturasas).

ByBM55- THE TBMCP1 METALLOCARBOXYPEPTIDASE IN PROCYCLIC TRYPOMASTIGOTES OF *TRYPANOSOMA BRUCEI*: NULL MUTANTS AND RNAi KNOCK-DOWN CELL LINES

Florencia M Oppenheimer, León A Bouvier, Juan J Cazzulo, Gabriela T Niemirowicz

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús "Dr. Rodolfo A. Ugalde" IIB-INTECH/UNSAM-CONICET, San Martín. E-mail: florencia.oppenheimer@gmail.com

Metallocarboxypeptidases (MCP) of the M32 family, while broadly distributed among prokaryotic organisms, can only be found in a few eukaryotes including trypanosomatids. Among these organisms are *Trypanosoma brucei* and *T. cruzi*, the causative agents of Sleeping Sickness and Chagas disease, respectively. The genomes of these parasites encode M32 MCPs, TBMCP1 and TbMCP1, which share 72% identity. Both orthologues have a cytosolic localization and are expressed in all parasite cultured forms. Although the structure and biochemistry of these enzymes is well known, no function for them has been reported to date. To study the physiological role of TbMCP1 in procyclic trypomastigotes we employed two different strategies. The first strategy included the generation of a double knockout parasite cell line in which both TbMCP1 alleles were replaced with selectable markers. After each selection step correct gene disruption was verified by PCR with primers on both sides of the antibiotic resistance gene. These cell lines were assayed for TbMCP1 expression by *Western blot*. Although TbMCP1 expression was reduced and completely absent in single and double null mutants respectively, no significant growth differences could be detected among them. With a similar methodology, parasites with TbMCP1 endogenously tagged at the N- or C-terminal with 3xFLAG and HA were obtained. TbMCP1 RNA interference was monitored by *Western blot* with antibodies against the epitope tags. The knockdown construct was based on pLEW100v5 vector and involved the stem-loop strategy for double stranded RNA generation. In contrast to the knock out parasites, upon induction of interference the cells showed increased duplication times. This suggests that knockout parasites might have developed metabolic compensatory pathways. Phenotype analysis through microscopic methodologies is currently being undertaken to get a better insight of the observed phenomena.

ByBM56- METILACION DE ADN EN *TRICHOMONAS VAGINALIS*

Ayelen Lizarraga⁽¹⁾, Pablo H Strobl-Mazzulla⁽²⁾, Natalia de Miguel⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Parásitos Anaerobios. IIB-INTECH CONICET-UNSAM, Chascomús. ⁽²⁾Laboratorio de Biología del Desarrollo. IIB-INTECH CONICET-UNSAM. Chascomús. E-mail: ayelenlizarraga@gmail.com

La tricomoniasis, provocada por el parásito protozoario unicelular *Trichomonas vaginalis*, es la enfermedad de transmisión sexual no viral más frecuente en el mundo entero. Existen varias cepas de *T. vaginalis* aisladas de pacientes que si bien poseen una secuencia de ADN casi idéntica, varían ampliamente en su capacidad de patogénesis, sugiriendo una regulación epigenética de la expresión génica en este parásito. Sin embargo, hasta el momento no se ha estudiado ninguno de los mecanismos epigenéticos conocidos y relacionados con el proceso de patogénesis de *T. vaginalis*. Dada la relevancia de la metilación del ADN como uno de los principales mecanismos epigenéticos, evaluamos la presencia de citosina metilada en el ADN de *T. vaginalis*. Mediante ensayos de Dot Blot e inmunofluorescencia indirecta utilizando un anticuerpo anti-m5C no fue posible la detección de citosinas metiladas (m5C) en este parásito. Además, tampoco fuimos capaces de identificar una metiltransferasa de citosinas en el genoma de este parásito. Contrariamente, identificamos mediante un análisis bioinformático 8 genes que contienen el sitio conservado específico para N-6-Adenina ADN metilasas y 2 posibles ADN demetilasas, sugiriendo que la metilación en adeninas (m6A), y no en citosinas, sería el principal mecanismo de metilación

de ADN en este parásito. Mediante un análisis de restricción del ADN genómico utilizando la enzima de restricción DpnI, la cual digiere ADN metilado en adeninas y un ensayo de *Dot Blot* con un anticuerpo anti-m6A, demostramos la existencia de esta modificación en el ADN genómico de *T. vaginalis*. Considerando el importante rol de la metilación en adeninas en bacterias, proponemos un rol clave de esta modificación epigenética en la regulación de la transcripción génica y patogénesis de *T. vaginalis*. Más importante aún, debido a la falta de m6A detectable en la célula hospedadora, proponemos a la m6A metiltransferasa como un potencial blanco alternativo de drogas específico.

ByBM57- SECUENCIA Y ESTRUCTURA DEL FACTOR DE ELONGACION 2 DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN LAS SEIS UNIDADES DISCRETAS DE TIPIFICACION

Leandro Simonetti⁽¹⁾, Carlos D Bruque⁽²⁾, Maximiliano Juri Ayub⁽³⁾, Silvia A Longhi⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGEPI – CONICET. ⁽²⁾Centro Nacional de Genética Médica – ANLIS-Malbran. ⁽³⁾Laboratorio de Biología Molecular, UNSL, IMBIO-SL, CONICET, San Luis. E-mail: simonettileandro@gmail.com

El factor de elongación 2 (EF2) es una GTPasa que participa en la síntesis de proteínas. Esta actividad está regulada por su interacción con las proteínas ribosomales P. En nuestro laboratorio, caracterizamos las proteínas ribosomales P de *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas, y estudiamos la interacción de estas con el EF2 del parásito (TcEF2). Para profundizar el estudio de estas interacciones nos enfocamos en la estructura del TcEF2. Puesto que *T. cruzi* se agrupa en seis Unidades Discretas de Tipificación (UDT I a VI), a partir de las secuencias completas de las cepas CL Brener y Silvio X10/0, que pertenecen a las UDT VI y I, respectivamente, se clonaron y secuenciaron los TcEF2 de las UDT restantes. A nivel de secuencias de ADN, la identidad entre los factores es mayor al 99%. Sin embargo, encontramos 31 sitios polimórficos, 80% de los cuales son transiciones. El 78% de las mutaciones son cambios sinónimos que afectan la tercera posición de los codones, mientras que las restantes producen en total 6 cambios no-sinónimos. En reconstrucciones filogenéticas, las UDT I y II forman líneas independientes, mientras que las UDT III y IV, y las UDT V y VI, forman grupos separados, acorde a los estudios existentes sobre la filogenia de *T. cruzi*. Para estudiar el efecto de los polimorfismos en la secuencia aminoacídica, realizamos el modelado molecular del TcEF2, basándonos en el cristal del factor de levaduras, utilizando el software MODELLER 9.12. Luego simulamos el efecto de las mutaciones sobre la estabilidad del modelo con el software FoldX 3.0. Solo la UDT I mostró diferencias significativas en sus valores relativos de energía libre. Los resultados obtenidos muestran que el TcEF2 está altamente conservado entre las distintas UDT, lo que sugiere que los resultados para un gen podrían ser extrapolados a los demás. Por su parte, el modelo construido supone el punto de partida para profundizar el estudio de las interacciones del TcEF2.

ByBM58-CO1- ANÁLISIS DE PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN EL CICLO CELULAR DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Santiago R Chávez García⁽¹⁾, Guillermo Eastman⁽²⁾, Pablo Smircich⁽¹⁾, José R Sotelo Silveira⁽²⁾, Beatriz Garat⁽¹⁾, María A Duhagon Serrat⁽¹⁾.

⁽¹⁾Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. ⁽²⁾ Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas, Montevideo, Uruguay. E-mail: santiagochavez22@gmail.com

El entendimiento de las bases moleculares que gobiernan la proliferación del protozoario *Trypanosoma cruzi* permitirá acelerar el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas para tratar la Enfermedad de Chagas. Para abordar el estudio de patrones globales de expresión génica en ciclo celular se llevó a cabo un análisis de RNA-seq en epimastigotas sincronizados por Hidroxiurea. En poblaciones enriquecidas al 70% en las fases G1, S y G2/M del ciclo celular se confirmó una regulación de los transcritos de genes de histonas (H3, H4) y ciclinas (TcCYC3, TcCYC11). Mediante secuenciación masiva de ARN poliadenilado (30 Millones de lecturas mapeados por muestra) se determinó un grupo de 305 genes regulados en el ciclo celular (nivel de cambio ≥ 1.5 , p-valor < 0.01). Análisis comparativos con bases de datos del cyclebase.org para humanos y levaduras y un estudio transcriptómico del ciclo celular de *T. brucei* demostraron la existencia de un grupo de genes coincidentes y un grupo de genes regulados únicamente en *T. cruzi*. Mediante análisis de ontología génica se observó la sobre-representación de funciones relacionadas al metabolismo energético en fase G1 (70 genes), la replicación del ADN y la cromatina en fase S (97 genes) y el movimiento basado en microtúbulos en fase G2 (138 genes). Se estudiaron características de los genes regulados en el ciclo como: distancia al sitio de inicio transcripcional, largo de las regiones UTR, contenido de GC, uso de codones y los resultados obtenidos se discuten. Para ello fue necesario generar una anotación borrador de las UTRs para *T. cruzi* mediante la detección de *reads* quiméricos con remanentes de la secuencia del mini-exón para 5' UTRs y de un oligómero de poli-adeninas para 3' UTRs. Finalmente, mediante análisis de *clustering* se determinaron 7 grupos de genes candidatos a estar co-regulados y para estos se presentan los resultados de la búsqueda de motivos de ARN enriquecidos en las regiones 5' y 3' UTRs.

ByBM59- IDENTIFICACION DE MICRORNAS EN TAENIA CRASSICEPS UTILIZANDO UNA ESTRATEGIA DE ALTO RENDIMIENTO

Matías G Pérez, Marcela Cucher, Natalia Macchiaroli, Gabriel Avila, María E Ancarola, Hugo Vaca, Laura Kamenetzky, Mara C Rosenzvit.

IMPaM. E-mail: mgperez@fmed.uba.ar

Taenia crassiceps es un parásito cestode cuyo ciclo biológico involucra a carnívoros como hospedadores definitivos. Roedores y conejos son los principales hospedadores intermediarios; aunque otras especies como los humanos pueden comportarse como hospedadores accidentales. Este platelminto es el modelo experimental de *Taenia solium* ya que comparten una gran similitud morfológica y antigénica. Los microRNAs (miRNAs) son RNAs pequeños, no codificantes, reguladores maestros de la expresión génica que poseen un rol fundamental en el desarrollo, crecimiento parasitario y en la respuesta a condiciones de *stress*. El objetivo de este trabajo es identificar por primera vez miRNAs en cisticercos de *Taenia crassiceps*, tratados con praziquantel (PZQ) a dosis subletales y no tratados, mediante secuenciación de alto rendimiento. Para realizar los experimentos se partió de tres réplicas biológicas y tres réplicas técnicas. Se realizaron ensayos para determinar la dosis subletal de PZQ con la que se trataron los cisticercos. Se extrajo ARN de tamaño menor a 200 bases, se realizó la transcripción reversa y por medio de PCR punto final se analizó la expresión de los miRNAs mir-71 y Bantam en cisticercos tratados con PZQ y sin tratar. El repertorio completo de miRNAs está siendo obtenido por smallRNA-seq. En este trabajo se realizó por primera vez la identificación de miRNAs de *T. crassiceps* con primers de *Echinococcus granulosus*, comprobando la presencia de miRNAs conservados entre estas dos especies de cestodes. La futura comparación del repertorio completo de RNAs pequeños in silico, con los repertorios de miRNAs de *E. granulosus*, *Echinococcus multilocularis* y *Mesocestoides corti*, sumado al estudio de su rol biológico, permitirá evaluar el potencial de estas moléculas como futuros blancos quimioterapéuticos de enfermedades zoonóticas producidas por cestodes, como la hidatidosis y neurocisticercosis.

ByBM60-CO5- INTERACTOMA REDOX DE TRYPANOSOMA CRUZI: EL PAPEL DE LAS TRIPARREDOXINAS

María D Piñeyro⁽¹⁾, Diego G Arias⁽²⁾, Adriana Parodi-Talice⁽³⁾, Alberto A Iglesias⁽²⁾, Sergio A Guerrero⁽²⁾, Carlos Robello⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo: Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo-Uruguay. ⁽²⁾ Instituto de Agrobiotecnología del Litoral, UNL-CONICET, Santa Fe, Argentina.. ⁽³⁾ Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo: Sección Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. E-mail: pineyro@pasteur.edu.uy

Trypanosoma cruzi posee dos triparredoxinas (TcTXNI y TcTXNII) que pertenecen a la superfamilia de la tiorredoxinas. Las TXNs son oxidoreductasas que median la transferencia de electrones desde el tripanotión a las peroxirredoxinas. Las células hospederas poseen oxidoreductasas diferentes a las TXNs, las tiorredoxinas. Estas diferencias hacen a las TXNs blancos atractivos para el diseño de drogas. En este trabajamos nos propusimos realizar la caracterización de las proteínas que interactúan con las TXNs de *T. cruzi*. El mecanismo de reacción de las TXNs está basado en 2 cisteínas conservadas. La Cys 40 y el blanco oxidado forman un puente disulfuro transitorio, que es resuelto luego por la Cys43 de la TXN, liberando la TXN oxidada y la proteína blanco reducida. Basados en este mecanismo, realizamos mutantes de la TXNI y la TXNII, sustituyendo la cisteína resolutive (43) por serina. La TXNIC43S se expresó en parásitos con un extremo N-terminal de 6 histidinas, y los complejos heterodisulfuros entre TXNIC43S y sus proteínas blancos fueron purificados por cromatografía de afinidad e identificados por 2-DE/MS. Se identificaron 15 proteínas que interactúan con TXNI, involucradas en dos tipos de procesos: metabolismo oxidativo y síntesis y degradación de proteínas. La TXNII43S fue purificada e incubada con lisados proteicos de *T. cruzi*, y los complejos heterodisulfuro fueron aislados por cromatografía de afinidad e identificados por 2-DE/MS. Esto permitió la identificación de 16 proteínas que interaccionan con la TXNII, involucradas en los siguientes procesos: sistemas antioxidantes, metabolismo energético y síntesis de proteínas. La identificación de proteínas que interactúan con las TXNs contribuye al conocimiento del interactoma redox de *T. cruzi*, y la participación de las mismas en diferentes procesos de la biología del parásito confirma su relevancia, haciéndolas blancos interesantes para la acción de fármacos.

ByBM61- TRÁFICO NO CONVENCIONAL Y DISPOSICIÓN DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA EN TRYPANOSOMA CRUZI

Giannina A Carlevaro, Andrés Lantos, Juan Burgos, Oscar Campetella, Juan Mucci.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas. E-mail: carlevarogiannina@gmail.com

A diferencia de los mamíferos, la membrana plasmática de los tripanosomátidos posee un alto porcentaje de proteínas ancladas por glicosil-fosfatidil-inositol (GPI). En *T. cruzi*, hemos demostrado que tres proteínas ancladas por GPI (TS, TSSA y mucinas) alcanzan la membrana plasmática a través de un transporte no convencional que involucra a la vacuola contráctil (VC), una organela ausente en mamíferos, involucrada en la osmo-regulación en protozoarios. Para estudiar si constituye una vía de tránsito general de proteínas hacia la superficie del parásito, analizamos el transporte de tres proteínas con distinto ancla a membrana [Calpaína (miristoilada y palmitoilada), KMP (sin señal aparente) y ToIT (GPI)], todas dispuestas

en dominios *lipid raft* de la membrana flagelar de tripomastigotes. Dichas proteínas fueron clonadas y expresadas para generar anticuerpos específicos. Por inmunofluorescencia, solamente la ToIT pudo ser observada en la VC durante su transporte hacia la membrana plasmática, indicando que la VC no forma parte de una vía de tránsito general, sino que estaría involucrada en el transporte de proteínas ancladas por GPI. Posteriormente analizamos la disposición de las tres proteínas en la membrana. Todas se observaron en dominios discretos, de tamaños variables según la proteína, en la membrana que recubre el flagelo de tripomastigotes. Como se esperaba, ninguna proteína en estudio colocalizó con la TS (presente en dominios *no lipid-rafts-like*). Sin embargo, tampoco fueron observadas en los dominios *lipid rafts* marcados por las Mucinas. Estos últimos resultados indican que la membrana del parásito estaría formada por múltiples dominios estables, más allá de la distinción entre los tipos de dominios lipídicos.

ByBM62- EL SILENCIAMIENTO GÉNICO DE LA PROTEÍNA RIBOSOMAL L19 BLOQUEA LA PROGRESIÓN DEL CICLO CELULAR EN *TRYPANOSOMA BRUCEI*.

María J Manzur⁽¹⁾, Juan M Zarate⁽¹⁾, Leandro Simonetti⁽²⁾, Mariana Schlesinger⁽²⁾, Alejandra C Schoijet⁽²⁾, Guillermo D Alonso⁽²⁾, Maximiliano Juri Ayub⁽²⁾.

⁽¹⁾ Fac. de Qca. Bioquímica y Fcia-IMIBIO-SL, CONICET-UNSL. ⁽²⁾Instituto de Investigación en Ingeniería Genética y Biología Experimental-INGEBI-CONICET. E-mail: jimemanzur@hotmail.com

La proteína ribosomal L19 forma parte de la subunidad mayor de los ribosomas eucariotas. En tripanosomátidos, dicha proteína posee, además del dominio canónico (PF01245), una extensión C-terminal de función desconocida. Con el objetivo de caracterizar funcionalmente esta proteína, generamos una línea de *T. brucei* que expresa de manera inducible un RNA interferente para L19. Luego de la inducción del RNAi con tetraciclina, corroboramos el silenciamiento de L19 mediante *Western Blot*. Ensayos de marcación metabólica mostraron que L19 es esencial en el proceso de traducción, ya que el silenciamiento de la misma provoca una disminución abrupta en la tasa de síntesis proteica (24 hs *post* inducción), observándose posteriormente una caída en la proliferación celular (48 hs *post* inducción). La caracterización morfológica de los parásitos silenciados mostró un aumento del tamaño de los mismos respecto al control, y la presencia de núcleo, kinetoplasto y flagelo duplicados. Estos resultados sugieren que el silenciamiento de la proteína ribosomal L19 en *T. brucei* induce un bloqueo del ciclo celular, probablemente a nivel de la citocinesis, durante la entrada del surco de segmentación. En base a todo esto, proponemos que el bloqueo de la traducción tiene como efecto una disminución de la concentración intracelular de alguna/s proteína/s de vida media corta, esencial/es para completar el ciclo celular. En estudios futuros planeamos analizar qué etapa de la traducción y de la citocinesis es inhibida por el silenciamiento, y evaluar los niveles de proteínas involucradas en la progresión del ciclo celular mediante *Western Blot* e Inmunofluorescencia.

ByBM63- EL DOMINIO N-TERMINAL DE LA POLI (ADP-RIBOSA) POLIMERASA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* ES RESPONSABLE DE LA TRANSLOCACIÓN NUCLEAR ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO

María L Kevorkian, Salomé C Vilchez Larrea, Mirtha M Flawiá, Silvia H Fernández Villamil.

INGEBI-CONICET. E-mail: laurakevorkian@gmail.com

La Poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) juega un papel clave en las vías de reparación del ADN frente al daño genotóxico. Cumple su función, como homodímero, a través de la síntesis de polímeros de ADP-ribosa (PAR), modificando covalentemente diferentes proteínas. *T. cruzi* contiene una única PARP (TcPARP), la cual se localiza en el citoplasma. Ante el estímulo generado por estrés oxidativo, transloca al núcleo donde se evidencia la formación de PAR. A diferencia de otros organismos eucariotas, existen pocas descripciones de señal de localización nuclear (NLS) en tripanosomátidos. Con el fin de determinar la secuencia responsable de la acumulación nuclear de TcPARP, se transfectaron epimastigotes de *T. cruzi* con la proteína completa o diferentes combinaciones de dominios de la enzima, etiquetados con HA. Éstos últimos comprenden el N-Terminal (aa 1-123), WGR (aa 124-224) y región catalítica (aa 225-592). Tras realizar inmunofluorescencias en parásitos sobreexpresantes, se observó que la TcPARP completa recombinante tiene un comportamiento equivalente al de la enzima nativa. Aquellos parásitos que sobreexpresan fragmentos que incluyen el dominio N-terminal localizan en el núcleo, mientras que las construcciones que no presentan esta región generan parásitos con fluorescencia dispersa en el citoplasma. Este resultado fue independiente de la producción de daño genómico (H₂O₂ 0.3M). De esta manera, demostramos que la secuencia comprendida en el N-terminal contiene la señal de localización ya que es la única capaz de dirigir el constructo al núcleo. Diferentes herramientas bioinformáticas postulan a TcPARP como una enzima nucleolar, lo cual coincidiría con la localización ya reportada para la PARP-1 y PARP-2 de mamífero. A través de la realización de curvas de crecimiento, se está evaluando el efecto de la sobreexpresión de las diferentes proteínas truncas sobre el crecimiento del parásito, en condiciones estándar y tras la generación de daño oxidativo.

ByBM64- EL BROMODOMINIO GLICOSOMAL TCBDP1 ES UN FACTOR DE PATOGENICIDAD DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Carla Ritagliati, Pamela Cribb, Esteban C Serra.

IBR-CONICET. E-mail: ritagliati@ibr-conicet.gov.ar

La acetilación se ha revelado en los últimos años como una de las modificaciones postranscripcionales más frecuentes, tanto en bacterias como en células eucariotas, de naturaleza conservada y ubicua, lo que sugiere un alto poder regulatorio que lleva a compararla con la fosforilación de proteínas. En este trabajo se identificaron por primera vez proteínas acetiladas en *T. cruzi*, distribuidas en los distintos compartimentos celulares (incluido el glicosoma) e involucradas en una amplia variedad de funciones. De las 150 proteínas identificadas, 42 corresponden a enzimas de distintas vías metabólicas. El número de proteínas acetiladas es similar al de *Toxoplasma gondii* y *Plasmodium falciparum*. Los datos presentados apoyan la hipótesis que la acetilación es una modificación crítica encontrada en todos los reinos que ha sido conservada aún después de la adaptación a vida parasitaria. El bromodominio, es el único dominio proteico de unión a lisina acetilada, presente casi exclusivamente en proteínas de localización nuclear. El Factor con Bromodominio 1 de *T. cruzi* se expresa en todos los estadios del ciclo de vida, pero presenta una expresión diferencial, siendo más abundante en el estadio infectivo (tripomastigotes) que en lo replicativos. En epimastigotes, se concentra en los glicosomas, dirigido por una señal de transporte peroxisomal tipo II (PTS2). La sobreexpresión de la proteína salvaje produce epimastigotes con morfología aberrante que casi no se replican y presentan una disminución en la tasa de metaciclogenesis. Sin embargo, los tripomastigotes son significativamente más infectivos. Por otro lado, la sobreexpresión de la proteína con una doble mutación puntual en el sitio de unión de la lisina acetilada, no es deletérea para el crecimiento de epimastigotes, ni para la diferenciación a tripomastigotes metacíclicos, pero sí para la infectividad de los tripomastigotes.

ByBM65- IDENTIFICACION DE ACIDOS GRASOS Y ESTEROLES PRESENTES EN ESPECIES DEL CILIADO TETRAHYMENA Y ANALISIS BIOINFORMATICO DE LAS VIAS SINTETICAS

María L Sánchez Granel⁽¹⁾, Carolina Chain⁽²⁾, Nicolás G Cid⁽²⁾, Alejandro D Nusblat⁽²⁾, Clara B Nudej⁽²⁾.

⁽¹⁾NANOBIOTEC-CONICET. ⁽²⁾ Instituto de Nanobiotecnología NANOBIOTEC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. E-mail: luzsgranel@gmail.com

En los últimos 25 años la identificación y análisis de lípidos en diferentes organismos ha cobrado un gran impulso debido a que no solo se los relaciona con el metabolismo energético y la estructura de membranas, sino también con numerosos roles biológicos celulares fundamentales. Algunos ejemplos de lípidos bioactivos son el diacilglicerol y el inositol trifosfato (metabolismo de calcio), ecosanoides (respuestas inflamatorias), monoacilglicerol (ligandos de receptores carabinoideos) y numerosos esfingolípidos como ceramidas, esfingosina 1-fosfato, ceramidas 1-fosfatos, involucradas en tráfico vesicular y traducción de señales. *Tetrahymena thermophila* es un protozooario ciliado ampliamente utilizado en investigación como organismo modelo eucariota. El estudio de lípidos en este organismo ha contribuido a la identificación de nuevas especies como por ejemplo diferentes fosfolípidos y tetrahymanol. Es por ello que se decidió centrar el estudio en la identificación de lípidos de interés en otras especies del género *Tetrahymena*, entre ellas *T. borealis*, *T. malaccensis*, *T. pigmentosa* y *T. ellioti*. En especial se identificaron ácidos grasos y esteroides mediante análisis de HPLC y GC-masa, en diversas condiciones de cultivo. Los estudios no revelaron diferencias en la composición cualitativa de ácidos grasos saturados e insaturados, como así tampoco al analizar la composición de esteroides; sí se observó una diferencia cuantitativa de los mismos en las distintas especies de *Tetrahymena*. A su vez, al estar disponible los genomas completos de estas especies como también sus transcritomas, se realizó un análisis bioinformático de las vías de síntesis y metabolismo tanto para ácidos grasos como esteroides. Este tipo de análisis reveló que al igual que *T. thermophila*, las especies estudiadas presentan posibles ortólogos en las vías de síntesis de los ácidos grasos insaturados al igual que de la vía de esteroides, como las enzimas C22 desaturasa y la C24 dietilasa.

ByBM66- PUTATIVE ROLE OF THE ALDO-KETO REDUCTASE FROM TRYPANOSOMA CRUZI (TCAKR) IN BENZNIDAZOLE METABOLISM

Patricia A Garavaglia⁽¹⁾, Marc Laverrière⁽²⁾, Joaquin JB Cannata⁽²⁾, Gabriela A García⁽¹⁾.

⁽¹⁾Instituto Nacional de Parasitología. ⁽²⁾ IIB-INTECH, UNSAM-CONICET. E-mail: gaandgarcia@yahoo.com

Benznidazole (Bz), the drug used for of Chagas' disease treatment caused by *Trypanosoma cruzi*, needs to be reductively activated to exert its effect. The NADH-dependent trypanosomal type I nitroreductase (NTR I) plays a key role in Bz activation, however, several studies indicate that other enzymes are involved. In this study, we evaluated whether the aldo-keto reductase from *T. cruzi* (TcAKR), a NADPH-dependent oxido-reductase previously described by our group, uses Bz as substrate. TcAKR purified from epimastigotes by Cibacron Blue affinity chromatography showed reductase activity towards Bz using NADPH, but not NADH, as co-factor, with a specific activity of 73.11 ± 3.65 nmol of NADPH/min/mg of protein. To understand the role of TcAKR in Bz susceptibility, we genetically engineered epimastigotes for tetracycline-inducible over-expression of TcAKR. TcAKR-over-expressing parasites showed increased NADPH-dependent-Bz reductase activity (7.73 ± 0.25 vs. 13.27 ± 1.91 nmol NADPH/min/mg of protein) and higher resistance to this drug (IC50 9.90 ± 1.30 μ M vs. 17.45

$\pm 1.25 \mu\text{M}$), suggesting that this enzyme may be involved in Bz detoxification. We also studied TcAKR expression and its new enzymatic activity in two *T. cruzi* strains with differential susceptibility to Bz, CL and Nicaragua, with IC50 values of 10 and 20.5 μM , respectively. Taking into account the results obtained with TcAKR-overexpressing epimastigotes, we expected that the more resistant strain, Nicaragua, had higher TcAKR levels than CL. However, the results were the opposite. In correlation with TcAKR expression, CL showed 5.7-fold higher NADPH-Bz reduction than Nicaragua. In addition, NADH-dependent Bz reductase activity, characteristic of the NTRI, was also higher in CL than in Nicaragua, indicating an association between this enzyme and Bz susceptibility. We conclude that TcAKR activity is not a determinant of Bz resistance in wild type strains and may be overcome by other enzymes involved in Bz activation

ByBM67- GENOTIFICACIÓN DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN INFECTADOS CRÓNICOS SEGÚN EVOLUCIÓN CLÍNICA

Lorena V Olivera⁽¹⁾, María L Bizaí⁽¹⁾, Santiago Suasnabar⁽¹⁾, Evelyn Arias⁽¹⁾, Florencia Petrolí⁽²⁾, Cristina Diez⁽²⁾, Diana Fabbro⁽¹⁾.

⁽¹⁾CIEN-FBCB-UNL. ⁽²⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica-FBCB-UNL. E-mail: veronicaolivera@yahoo.com.ar

La diversidad genética del *Trypanosoma cruzi* podría implicar diferencias en la evolución clínica de los infectados. El objetivo fue evaluar si existe asociación entre cepa parasitaria y evolución de la patología chagásica. En 57 adultos (50 \pm 15 años de edad) infectados crónicos, con seguimiento serológico y clínico durante más de 10 años, se realizó genotipificación del parásito (UDT: I; II; V y VI) mediante MLS-PCR. Los pacientes se agruparon en: A) 30 (52,6%) con clínica y ECG normal; B) 22 (38,6%) con patología chagásica y, C) 5 (8,8%) con ECG alterado y patologías asociadas. Del total evaluado, se pudo tipificar el parásito en 48 infectados. En el grupo A se lograron caracterizar 27 muestras: 15 con una única UDT y 12 con dos o más. Se tipificaron las siguientes cepas (solas o asociadas): TcVI en 70,3% (19/27); TcV en 55,5% (15/27); TcII en 14,8% (4/27) y TcI en 11,1% (3/27). En el grupo B (20 con miocardiopatía chagásica y 2 megacolon+megaesófago), se lograron caracterizar 17 muestras, identificándose 11 infecciones con una única UDT y 6 infecciones con 2 o más UDT asociadas. Se identificó TcVI, sola o asociada, en 64,7% (11/17); TcV en 35,3% (6/17); TcII en 17,6% (3/17) y TcI en 17,6% (3/17). En el Grupo C: 2 pacientes con TcVI; 1 con TcII y una infección con TcI + TcV+TcVI. No se encontró asociación entre las UDT halladas y la evolución clínica de los infectados (test de correlación de Spearman $p>0,05$). Sin embargo, en los pacientes que evolucionaron a grados con mayor compromiso cardíaco o con mega vísceras se detectaron infecciones mixtas a TcV+TcVI en 3 de los 6 casos. Esta asociación se encontró solo en el 33,3% de infectados del grupo A, sin manifestaciones clínicas durante los años de seguimiento. Además, se observó mayor frecuencia de UDT TcV en los infectados que se mantuvieron sanos en relación a los que desarrollaron la enfermedad. Estas tendencias deberían ser corroboradas en un número mayor de pacientes con estas características.

ByBM68- ESTUDIO DE LA METACASPASA TCMCA3 DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Brian D Pérez López, León A Bouvier, Gabriela T Niemirowicz, Emir Salas Sarduy, Juan J Cazzulo, Vanina E Alvarez.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo Ugalde" -Instituto Tecnológico Chascomús, UNSAM-CONICET, San Martín. E-mail: brialcon@hotmail.com

Las metacaspasas son cisteín proteasas homólogas estructurales de las caspasas, sin embargo difieren radicalmente en la especificidad de sustratos al clivar proteínas luego de residuos de arginina y lisina, en lugar de ácido aspártico. Esta familia de enzimas se encuentra exclusivamente presente en protozoarios, plantas y hongos, donde se han hallado involucradas en muerte celular programada, progresión del ciclo celular y remoción de agregados proteicos. Debido a que no se conocen sus sustratos, los mecanismos moleculares mediante los cuales participan en dichos procesos aún no han sido dilucidados. En *Trypanosoma cruzi* existen dos variantes, la TcMCA3 y la TcMCA5. En particular existen evidencias que TcMCA3 estaría involucrada en el arresto del ciclo celular, protección de muerte celular y diferenciación. Adicionalmente resultados preliminares del laboratorio sugieren que podría participar en procesos de invasión celular y establecimiento de la infección. En experimentos de nuestro laboratorio se determinó que la expresión en *Escherichia coli* conduce a la agregación de TcMCA3 en cuerpos de inclusión. Con el fin de obtener la proteasa soluble y activa empleamos dos abordajes. Por un lado realizamos la puesta a punto de un protocolo de purificación, solubilización y replegamiento de TcMCA3 a partir de cuerpos de inclusión. Alternativamente utilizamos el sistema de expresión de baculovirus en células de insecto, en las cuales pudimos expresar TcMCA3-GST de forma soluble. Por lo tanto en este trabajo generamos un método para obtener TcMCA3 activa y con elevada pureza. Actualmente se está llevando a cabo la caracterización bioquímica de la metacaspasa obtenida a partir de cada abordaje de forma comparativa. A su vez estamos continuando con el estudio de patrones de expresión a lo largo del ciclo de vida en parásitos en cultivo y células infectadas con el fin de establecer el potencial rol de TcMCA3 durante el proceso de invasión e infección.

ByBM69- CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA SOBREENPRESANTE DE LA PROTEÍNA HIGH MOBILITY GROUP B DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Luis Tavernelli, Virginia Perdomo, Marcelo Merli, Victoria Alonso, Pamela Cribb.

IBR-CONICET, FCByF, UNR. E-mail: cribb@br.gov.ar

Las *High Mobility Group B* son una familia de proteínas de la cromatina que participan en diversas funciones como la transcripción, reparación y replicación del ADN. La HMGB de *Trypanosoma cruzi* (TcHMGB) presenta dos dominios de unión al ADN "HMG-box" y un dominio N-terminal único de las HMGBs de tripanosomas. Nuestro objetivo general es dilucidar el rol de TcHMGB en el control de la expresión génica. La secuencia codificante de TcHMGB se clonó en el vector pTcINDEX-GW, con dos epítopos de hemaglutinina (HA) en *tándem* que nos permiten usar anticuerpos comerciales para ensayos de inmunolocalización e inmunoprecipitación. Se transfetaron epimastigotes de la cepa de *T. cruzi* Dm28c/pLEW13 con el vector pTcINDEX-TcHMGB(HA)2. La sobreexpresión de la proteína en los transfectantes, se verificó mediante *Western Blot* utilizando anticuerpos anti-TcHMGB y anti-HA. Por otro lado se cuantificaron los niveles de transcripto mediante PCR en tiempo real, usando GAPDH como gen de referencia. La localización subcelular de la proteína en el parásito se verificó mediante inmunofluorescencia utilizando anticuerpos anti-HMGB y anti-HA, confirmándose la localización nuclear de la TcHMGB exógena. Como primera aproximación para determinar el efecto de la sobreexpresión de TcHMGB en el parásito, se realizaron curvas de crecimiento donde se observó una disminución del crecimiento a partir del sexto día, usando la cepa que porta el vector vacío como control. Se evaluó además el efecto de la sobreexpresión de TcHMGB sobre la metacicloogénesis *in vitro*. Por último, se midió el porcentaje de infectividad de la cepa sobreexpresante con respecto a aquella que porta el plásmido vacío sobre células Vero. Actualmente se están construyendo cepas sobreexpresantes de versiones truncadas de TcHMGB, que podrían funcionar como mutantes dominante negativas, contribuyendo a la comprensión de las funciones de TcHMGB y de sus distintos dominios en el parásito *T. cruzi*.

ByBM70- THE BRANCHED-CHAIN ALPHA KETO ACID DEHYDROGENASE COMPLEX OF *TRYPANOSOMA CRUZI*

Carolina Manchola, Ludmila N Rapado, Maria J Barisón, Ariel M Silber.

Universidade De São Paulo, São Paulo, Sp, Brasil. E-mail: carolinamanchola@usp.br

Trypanosoma cruzi has the ability to use amino acids as carbon and energy sources. Leucine (Leu) can be metabolized by epimastigotes of *T. cruzi* as also described for other amino acids like Aspartate (Asp), Glutamate (Glu), Asparagine (Asn), Glutamine (Gln), Proline (Pro) and Isoleucine (Ile). It is well established that amino acids play several roles in the trypanosomatids biology, i.e., Pro, Leu, Glu and Asp are involved in the metacyclogenesis. Furthermore, Leu is necessary for the translation process and it is important on the globular and membrane proteins structure. Due to the absence of putative genes for branched chain amino acids (BCAA) biosynthesis in *T. cruzi* genome, the availability of BCAA should depend on uptake into the cell or protein degradation. In spite of the metabolic relevance of BCAA, their transport and metabolism are poorly known. In the present work, we studied the branched-chain alpha keto acid dehydrogenase complex (BCAKDH) of *T. cruzi*, a key step on the BCAA degradation pathway. In this sense, we have measured its enzymatic activity in crude extracts, using the 3-methyl 2-oxopentanoic acid and the 4-methyl-2- oxovaleric acid, alpha keto acids of Ile and Leu respectively. In order to investigate more about the molecular characteristics of this complex, the enzymatic component of the BCAKDH, was cloned and expressed in a bacteria heterologous system and those recombinant subunit enzymes were purified and used to the antibody production. The intra cellular epimastigotes enzymatic BCAKDH localization is showed and the BCAKDH E1 expression in different *T. cruzi* forms was studied. These data prove the presence of an active BCAKDH complex in *T. cruzi*.

ByBM71- THE DEPLETION OF HISTIDINE IN *TRYPANOSOMA CRUZI* LEADS TO CELL DEATH

Raissa FP Melo, Maria J Barison, Ariel M Silber.

Universidade De São Paulo, São Paulo, Sp, Brasil. E-mail: raissamelo@usp.br

Trypanosoma cruzi, the etiological agent of Chagas disease is able to catabolize carbohydrates and amino acids as energy and carbon sources. Several amino acids shown to be involved in other biological processes that are fundamental to the progress of parasite life cycle. Notably interesting results histidine (His), which degradation pathway to glutamate is present in *T. cruzi*, but not in *Trypanosoma brucei* or *Leishmania spp.*, however it can't be synthesized by anyone. We demonstrated His is able to keep the parasite viability under metabolic stress conditions; it can be oxidated producing CO₂, when used as unique carbon source and that it's incorporated in an ATP dependent transport system. In order to complement these studies, we decided to explore the possible mechanisms of cell death involved in depletion stress. In this sense, the parasites were cultivated in a semi-defined medium (AR-103 10% FSB) prepared with or without His, completed and depleted medium, respectively. It was observed that parasites when cultivated in depleted medium, at different times (12, 24, 48 and 96 hours), began a cell death process, probably apoptosis between the third and fourth day and it can be reverted, when parasites recovery was performed with 3 mM His, until 24 hours after the initial point. Proliferation curves, cell viability by MTT assay and flow cytometry have been used to execute the approaches. Now, we have data that

corroborate the hypothesis that His is essential to *T. cruzi* survival and, more than it, this study could be useful to elucidate the perspectives of His transporters as potential therapeutic trypanocidal drugs.

Indice de autores

A

Acco Albuquerque, Renato, 83
 Acosta, Diana M, 82
 Agüero, Fernan, 33
 Alba Soto, Catalina D, 31, 57, 66, 68, 71
 Albani, Clara M, 41, 59
 Albareda, M Cecilia, 36, 42, 72, 78
 Albarracin, Romina M, 80
 Alberca, Lucas N, 31, 86
 Allemandi, Danie I, 41, 59
 Alliani, Bruno, 76
 Alonso, Victoria, 23, 95, 110
 Alonso, Maria R, 69
 Alonso, Guillermo D, 107, 97, 83
 Alonso, Andrés, 98
 Altcheh, Jaime, 19, 33, 41, 42, 43, 55, 62, 63, 77, 83
 Alvarez, María G, 36, 42, 72, 78
 Alvarez, Vanina E, 91, 109
 Alvarez-Valín, Fernando, 40, 97
 Ameloot, Paul, 27
 Amico, Indira D, 42, 62
 Ancarola, María E, 41, 74, 94, 106
 Andrada, Marta C, 41, 72
 Ángel, Sergio O, 40, 93, 95, 98
 Aoki, M Pilar, 40, 41, 66, 72
 Apt, Werner, 33, 70
 Arcón, Nadia, 77, 78
 Argüello, LB, 57
 Arias, Evelyn, 64, 109
 Arias, Enrique, 64
 Arias, Diego G, 42, 81, 106
 Arribada, Arturo, 70
 Asís, Silvia E, 61
 Assis, Juliana, 30
 Averbach, Joaquín, 48
 Avila, Gabriel, 24, 95, 106

B

Bacigalupe, Diana, 56, 67
 Báez, Alejandra L, 42, 56, 77, 87
 Balcazar, Darío, 31, 86, 101
 Ballering, Griselda, 33, 42, 62
 Balouz, Virginia, 43, 55
 Balsalobre, A, 25
 Bañuelos, Carolina P, 96, 98
 Barbero, Ignacio M, 48

Barbery V, Melisa S, 90
 Barisón, Maria J, 59, 110
 Baroni, Mariana, 43, 53
 Barroso, Paola A, 38, 65
 Bassi, Amilcar, 51
 Batalla, Estela I, 71
 Bazán, Paola C, 42, 56, 77
 Bazán, Carolina, 87
 Beer, M Florencia, 67, 69
 Belaunzarán, María L, 87
 Belgamo, Julián A, 30
 Bellera, Carolina L, 31, 66
 Belluzo, Bruno, 43, 58
 Benatar, Alejandro, 36
 Bengoa Luoni, Sofia A, 67
 Benitez, Osvaldo, 52
 Berazategui, María A, 91
 Bernal, Dolores, 14
 Bernstein, Mariana, 65, 85
 Bertocchi, Graciela, 78
 Bertona, Daiana, 76
 Besuschio, Susana, 51
 Bisio, Margarita MC, 33, 41, 42, 60, 62, 69, 77, 83
 Bispo, Saloe, 32, 89
 Bivona, Augusto E, 67, 69
 Bizai, Maria L, 43, 53, 64, 109
 Bogado, Silvina S, 78, 95
 Bontempi, Iván A, 27, 76, 81
 Borda, Carlos E, 52, 68
 Bott, Emanuel, 87
 Bouvier, León A, 104, 109
 Brehm, Klaus, 29, 91
 Brossas, Jean-Yves, 41, 83
 Bruque, Carlos D, 105
 Brusés, Bettina L, 92
 Bua, Jacqueline, 34, 40, 61, 62, 99
 Buldain, Graciela Y, 61
 Burgi Fissolo, María de los Milagros, 76
 Burgos, Juan, 15, 106
 Burrioni, Nora E, 48
 Buscaglia, Carlos A, 33, 43, 55
 Buscemi, Luis M, 64
 Bustos, Patricia L, 99
 Butti, Marcos, 30

C

Cabalén, María E, 41, 72
Caballero, Marina, 98
Cabral, María F, 41, 72
Cabrera, Gabriel, 27, 76, 81
Caeiro, Lucas, 41, 71
Cajal, Silvana P, 38, 65
Callewaert, Nico, 27
Camicia, Federico, 95, 100
Campero, Lucía M, 56, 65
Campetella, Oscar, 15, 106
Campo, Vanina A, 23, 98
Canabire, Maria, 65
Canals, Mauricio, 33, 34
Canavoso, Lilián E, 50
Cannata, Joaquin JB, 108
Cano, Roxana C, 41, 72
Capiel, Carlos, 48
Capozzo, Alejandra V, 82
Carbajo, Aníbal E, 26
Cardinal, M Victorial, 25
Cardoso, Nancy, 82
Cardozo, Miriam, 50
Carlevaro, Giannina A, 106
Carnicero, Florencia, 50
Caro, Nicolás, 65
Carral, Liliana, 85
Carriazo, Carlota S, 93
Carrillo, Carolina, 31, 66, 86, 101
Carrington, Mark, 24
Casasco, Agustina, 76
Casassa, A Florencia, 31
Castellanos-Gonzalez, Alejandro, 42, 69
Castilho, Beatriz A, 24
Castro Eiro, Melisa D, 42, 72
Catalan, Cesar, 69
Cazorla, Silvia, 67, 69
Cazzulo, Juan J, 14, 91, 92, 104, 109
Ceccarelli, S, 25
Cerliani, Juan P, 36
Cerny, Natacha, 67, 69
Cevey, Ágata, 35, 80
Chain, Carolina, 103, 108
Chao, María N, 63
Chapelle, Manuel, 41, 83
Chávez García, Santiago R, 4, 40, 105
Cid, Nicolás G, 100, 103, 108
Ciocchini, Andrés E, 43, 55
Cirulli, Brenda A, 103
Clemente, Marina, 32, 67, 80
Colley, Gretchen, 36, 42, 72
Contreras, Ivan, 51, 80
Contreras, Susana M, 95

Contreras, Marisol, 98
Córdoba, María A, 37, 49, 53, 66
Córdova, Ezequiel, 64
Corigliano, Mariana G, 80
Correa, Felipe, 51, 79, 80
Córsico, Betina, 30
Corti, Marcelo A, 64
Corvi, Maria, 40, 93, 98
Couto, Alicia S, 82
Cribb, Pamela, 23, 51, 95, 108, 110
Cricco, Julia A, 103
Cristi DC Avila, Carla, 24
Crocco, Liliana B, 49, 50, 53, 54
Cucher, Marcela, 30, 41, 74, 94, 95, 100, 106
Cumino, Andrea C, 89
Cura, Carolina I, 42, 57, 92
Curto, María de los A, 43, 60

D

Dallagiovanna, Bruno, 32, 89
Danesi, Emmaria, 34
Dávila, Valeria, 89
De Felice, Lorena, 64
de la Barra, Anabel, 43, 60
de la Fournière, Sofía AM, 53, 68
de Lima, Jeferson C, 28, 83
De Luca, Belén M, 103
Demattei, Sylvia, 41, 70
de Miguel, Natalia, 28, 104
De Rissio, Ana M, 36, 60
de Souza, Wanderley, 83
Debarba, João A, 28
Decker Franco, Cecilia, 58
Del Coco, Valeria F, 37
Del Médico, María P, 42, 75
Delfino, Jose M, 92
Dellarupe, Andrea, 40, 54, 55, 56, 83, 84, 85
Deluca, Gerardo D, 92
Denegri, Guillermo M, 47, 99
Denner, Susana, 34
di Girolamo, Fabio, 85, 93
Diez, Cristina, 43, 53, 109
Digirolamo, Fabio A, 84
Donadel, Osvaldo, 67
dos Santos, Guilherme B, 28
Drago, Daniela, 89
Duhagon, Maria A, 32, 40, 89, 105
Durlach, Ricardo A, 85
Duschak, Vilma G, 82

E

Eastman, Guillermo, 32, 40, 89, 105

Ebinger, Maren, 45
Echeverría, MG, 25
Edreira, Martín M, 56, 90
Eiras, Diego F, 40, 44, 55
Elguero, M Eugenia, 101, 102, 103
Elisondo, María C, 41, 48, 59
Elso, Orlando, 67
Esteva, Mónica I, 40, 42, 60, 61, 62, 69, 82
Esteves, Blanca H, 56, 87
Estévez, J Octavio, 38
Exeni Matiuzzi, Carolina, 63

F

Fabbri, Julia, 48
Fabbro, Diana L, 34, 43, 53, 64, 109
Farber, Marisa D, 45, 53, 68
Fargnoli, Lucía, 59
Farías, Carla, 48
Farran, Inmaculada, 80
Faya, Marcela I, 74
Fenoy, Ignacio, 37, 77, 78, 95
Fernández, Cecilia, 91
Fernández, Gustavo J, 92
Fernandez, Lucia R, 90
Fernandez, Marisa L, 36, 63, 64
Fernández, M Pilar, 25
Fernández Villamil, Silvia H, 23, 107
Ferreira, Henrique B, 28
Ferreira, Ana M, 41, 90
Ferrer, María F, 75
Ferrer Casal, Mariana, 63
Ferrero, Maximiliano R, 82
Ferri, Gabriel, 90
Ferrulli, Mariana, 90
Fichera, Laura E, 19, 36, 40, 61, 62
Figueras, María J, 40, 93, 97
Fitte, Bruno, 54, 84
Flaibani, Nicolas, 48
Flawiá, Mirtha M, 23, 83, 97, 107
Fleitas, Adriana I, 68
Fleitas, Pedro E, 81
Flores, Daniela A, 73
Florin-Christensen, Monica, 39, 58, 73
Folle, Ana M, 41, 90
Fonzo, Adriana, 82
Formichelli, Laura B, 92
Fossaroli, Gustavo, 43, 53
Fraccaroli, Laura, 31, 86, 101
Fragueiro Frias, Victoria, 65
Francard, Solange, 48
Franchini, Gisela R, 30
Frank, Fernanda M, 61, 69, 76

Freuler, Cristina B, 85
Fronza, Georgina, 40, 49
Fuchs, Alicia G, 75, 90
Fugassa, Martín H, 99
Furlan, Paulina J, 74

G

Galaka, Tamila, 63
Gambino, Dinorah, 88
Garat, Beatriz, 32, 40, 89, 105
Garavaglia, Patricia A, 108
García, Beatriz A, 93, 94
García, Gabriela A, 36, 82, 108
García, Lineth, 43, 60
García, Mónica C, 40, 66
García, Valeria, 43, 58
García-Bournissen, Facundo, 19, 33, 42, 62, 63, 77
García Fernandez, Mailen S, 48
García-Vázquez, Zeferino, 39
Gargantini, Pablo R, 41, 73, 74
Garro, Carlos J, 45
Gaspe, M Sol, 25
Gea, Susana, 41, 72
Gené, Cristina M, 68
Genta, Patricio, 97
Gibson, Wendy, 24
Gimenez, Guadalupe, 87
Gimenez, Ignacio, 93
Giordana, Lucila, 86
Giorello, A Nahili, 30
Giraudi, Daniela, 58
Giudici, Claudio, 51
Goldenberg, Samuel, 32, 89
Goldman, Alejandra, 37, 77, 78
Gomes Araújo, Flávio, 30
Gómez, Karina A, 36
Gómez, Maximiliano, 50
Gomez, Ricardo M, 75
González, Carlos, 51,80
González, Florencia B, 27
González, Nicolás, 33, 42, 43, 55, 62
González, Rodrigo H, 103
Gonzalez, Soledad N, 92
Gonzalez, Verónica, 43,58
González Cappa, Stella M, 57, 71, 74, 81
Goren, Nora B, 35, 80
Gos, María L, 47, 65, 83, 85
Gravisaco, María J, 42, 75
Greif, Gonzalo, 40, 97
Grosso, Carla G, 94
Gual, Ignacio, 47

Guerrero, Sergio A, 42, 81, 106
Gugliotta, Luis, 43, 58
Guillemi, Eliana C, 53
Gulin, Julián E N, 77
Gullin, Ernesto, 41, 83
Gürtler, Ricardo E, 25
Gutierrez, Brenda C, 81
Gutierrez, Daniela, 50

H

Hashiguchi, Yoshihisa, 38
Hecker, Yanina P, 47
Heredia, Cecilia, 34
Hernández, Daniel O, 82
Hernández, Marcela, 79
Hidalgo, Christian, 79
Hidalgo-Ruiz, Mario, 39
Holetz, Fabiola, 32, 89
Hoyos, Carlos L, 38, 65

I

Ibañez, Federico, 48
Ibáñez-Shimabukuro, Marina, 30
Iglesias, Alberto A, 42, 106
Irazu, Lucia, 43, 60
Iribarren, Paula A, 91
Isola, Evisa LD, 87
Iwai, Leo K, 90

J

Jara, Leandro R, 73
Jaramillo Ortiz, José M, 42, 68, 75
Jiménez, Edgar, 51, 79, 80
Jimenez-Kairuz, Alvaro F, 40, 66
Juarez, Marisa, 38, 65
Juri Ayub, Maximiliano, 105, 107

K

Kamenetzky, Laura, 30, 95, 100, 106
Kaufer, Federico J, 85
Kennedy, Malcolm W, 30
Kessler, Camila, 33
Kevorkian, María L, 23, 107
Kitano, Eduardo S, 41, 90
Korenaga, Masataka, 38
Koziol, Uriel, 29, 91
Krolewiecki, Alejandro J, 65

L

Labadie, Guillermo R, 59
Labriola, Carlos, 31
Lagier, Claudia, 43, 58

Laguía Becher, Melina, 80
Lambruschi, Daniel A, 42, 96
Lammel, Estela M, 81, 87
Langellotti, Cecilia, 82
Lantos, Andrés, 106
Laucella, Susana A, 36, 42, 72, 78
Laurella, Laura C, 69
Lauthier, Juan J, 38
Laverrière, Marc, 108
Leguizamón, Marcelo, 43,53
Leguizamón, M Susana, 15,75
Levy, Gabriela V, 88, 96, 98
Lista, Nicolás, 64
Lizarraga, Ayelen, 104
Lo Presti, María S, 42, 56, 77, 87
Lobbia, Patricia A, 53
Locatelli, Fabricio M, 38
Lococo, Bruno, 78
Lombardo, Elisa, 69
Longhi, Silvia A, 105
Loos, Julia A, 89
López, Ana G, 50, 53, 54
López, Maria de los A, 46,47
López, María G, 87
López, Stella M, 65
López Albizu, Constanza, 42, 57
López Arias, Ludmila S, 45
López Muñoz, Rodrigo A, 32,85
Lorenzatto, Karina R, 28
Lucero, Raul H, 92
Luciani, Carlos, 45
Luján, Hugo D, 41, 73, 74

M

Macchiaroli, Natialia, 30, 95, 106
Maglioco, Andrea F, 90
Maidana, Cristina G, 62
Malagrino, Nora, 62
Malchiodi, Emilio, 67, 69
Maldonado, Lucas L, 30, 95, 100
Manarin, Romina, 23
Manchola, Carolina, 110
Mansilla, Florencia C, 82
Manzo, Rubén H, 40, 66
Manzur, María J, 107
Marcilla, Antonio, 14, 41, 74, 94
Marcipar, Iván S, 27, 43, 58, 76, 81
Marco, Diego, 65
Marco, Jorge D, 38
Marcora, M Silvina, 101
Marín, M Leila, 40, 55
Marson, Maria E, 19, 63

Marti, Gerardo, 25
Martin, Valentina, 56, 77, 78
Martinez, Andrea, 82
Martínez Sayé, Melisa, 85
Martino, Virginia, 67,69
Martino, Román A, 41,73
Mastrantonio, Guido E, 19, 63
Maugeri, Dante, 92
Maya, Juan D, 32
Mazier, Dominique, 41, 83
Mazzuca, Marcia, 56
Medone, P, 25
Melli, Luciano J, 43, 55
Melo, Raissa FP, 110
Melucci Ganzarain, Claudia del Carmen, 89
Méndez, Pamela, 51, 79, 80
Merli, Marcelo L, 103, 110
Michels, Paul, 8, 15
Mierez, Mirta L, 52
Mild, Jesica G, 56
Milduberger, Natalia A, 99
Miler, Noemí, 42, 56, 77, 87
Mira, Anabela, 39, 58
Miranda, Cristian, 68,71
Miranda, Kildare, 83
Miranda, Mariana R, 84, 85, 93, 101
Mirkin, Gerardo, 35, 80
Mital, Jeffrey, 26
Moin, Syed M, 26
Molina, Israel, 43, 60
Molinari, María P, 42, 75
Monteiro, Karina M, 28
Montenegro, Valeria, 68
Montes, Guadalupe, 101, 102, 103
Moore, Dadín P, 47
Moré, Gastón A, 38, 40, 44, 47, 55, 56, 65, 83, 84, 85
Morici, Gabriel E, 45
Morillo, Carlos A, 20
Moroni, Samanta, 19, 33, 42, 43, 55, 62
Moscatelli, Guillermo, 19, 33, 42, 43, 55, 62
Mosqueda, Armando, 52
Mosqueda, Juan, 39, 58
Mosqueda, Luis A, 52
Mosquillo, Florencia, 88
Mougabure Cueto, Gastón A, 40, 49
Mourglia Ettlin, Gustavo, 41, 70
Mucci, Juan, 15, 40, 106
Múnera López, Jonathan, 40, 93
Munroe, David, 32, 89
Muracciole, Diana I, 46, 47
Murdoch, Margarita, 46

Muscia, Gisela C, 61
Musikant, Alejandro D, 90

N

Nasser, Julio R, 38
Natale, M Ailén, 78
Nattero, Julieta, 49, 50
Navone, Graciela, 54, 84
Negri, Vanesa, 65
Nevot, M Cecilia, 38, 40, 55
Nielsen, Morten, 28
Niemirowicz, Gabriela T, 104, 109
Níttolo, Analía G, 96, 98
Nowicki, Cristina, 86
Nudel, Berta C, 100
Nudel, Clara B, 101, 102, 103, 108
Nusblat, Alejandro D, 100, 101, 102, 103, 108

O

Olaya Martínez, Ernesto J, 44
Olenka Codebó, Maria, 34
Olgiati, María L, 82
Oliveira, Guilherme, 30, 95
Olivera, Lorena V, 43, 53, 109
Olivera, Verónica, 34, 64
Oppenheimer, Florencia M, 104
Orcinoli, Maria T, 42, 70
Ortiz Vela, Noot A, 39
Osuna Carrillo, Antonio, 85

P

Paglioni, Patricia A, 42, 56, 77, 87
Pagura, Lucas, 103
Palazon, George, 41, 83
Palermo, Jorge A, 56, 90
Palma, María B, 61
Palma, Santiago D, 41,59
Paoletta, Martina S, 42, 45, 53, 75
Pardini, Lais L, 38, 65, 83, 84, 85
Paredes, Alejandro, 41,59
Paredes, Rodolfo, 51, 79, 80
Pariani, Sebastián, 80
Paris, Luc, 41, 83
Parodi-Talice, Adriana, 42, 106
Parrado, Rudy, 43, 60
Parras, Matías A, 24, 45, 46, 50
Parussini, Fabiola, 26
Pascuale, Carla A, 75
Peacock, Lori, 24
Penas, Federico N, 35, 80
Pensel, Patricia, 41, 59
Peña, Víctor, 33

Perdomo, Virginia, 110
Pereira, Claudio A, 84, 85, 93, 101
Pérez, Ana R, 27
Pérez, Matías G, 95, 106
Perez de León, Adalberto, 39
Pérez de Villareal, Yanina, 48
Pérez López, Brian D, 109
Pérez-Díaz, Leticia, 88, 102
Perrone, Alina E, 99
Petray, Patricia B, 76
Petrigh, Romina S, 99
Petroli, Florencia, 43, 53, 109
Petti, Marcos, 42, 72
Peverengo, Luz, 43, 58, 76
Picchi, Mariano S, 77
Picchio, Mariano S, 78
Picollo, María I, 40, 49
Pino Martínez, Agustina M, 71
Pintos, Lucia, 50
Piñeyro, María D, 42, 106
Pizarro, Valeria, 70
Poato, Alexia A, 81
Poklépovich Caride, Tomás J, 73
Ponce, Nicolás E, 40, 66
Poncini, Carolina, 41, 74, 81, 94
Postan, Miriam, 36
Potenza, Mariana, 85
Prado, Nilda, 20, 40, 61, 62
Prando Moore, Dadín, 82
Pravia, Carlos A, 75
Prochetto, A Estefanía, 76
Provecho, Yael M, 25

Q

Quintana, María G, 24
Quintana, M Eugenia, 82
Quintanilla, María F, 50
Quispe Huacho, Marco, 83

R

Rabinovich, Gabriel, 36
Racca, Andrea, 43, 58
Radío, Santiago E, 91
Radman, Nilda A, 30
Rambeaud, M, 56
Ramírez, Juan C, 42, 43, 57, 60, 63
Ramirez, Marcel, 81
Rapado, Ludmila N, 110
Rea, María JF, 52, 68
Reigada, Chantal, 84, 85, 93, 101
Repetto, Silvia, 57, 71
Rey, M Florencia, 30

Reyna-Bello, Armando, 40, 97
Reynoso, María N, 42, 77
Rial, Marcela, 40, 61, 62
Riarte, Adelina, 40, 61, 62, 63, 65
Ribeiro, Isabela, 22, 43, 60
Ritagliati, Carla, 23, 95, 108
Rivarola, Héctor W, 40, 42, 56, 66, 77, 87
Rivero, Rocío, 42, 60, 62, 69
Rizzi, Mariana, 88
Robello, Carlos, 40, 42, 97, 106
Robles, Maria R, 54, 84
Rocco, Daniela M, 77
Rodeles, Luz, 43, 58, 76, 81
Rodríguez, Anabel E, 73
Rodríguez, Christian R, 89
Rodríguez, Claudia, 46
Rodríguez, Claudia S, 50, 53, 54
Rodríguez, Giselle M, 88
Rodríguez, Juan B, 63
Rodríguez, Marcelo, 43, 60
Rodríguez, Matías, 40, 97
Roggero, Eduardo A, 27
Roldán, Emilio, 90
Romano, Patricia S, 31
Romero, Alejandro, 46, 47
Romero, Eder L, 18
Romero-Salas, Dora, 39, 58
Rosa, Juan, 24, 45, 46, 50
Rosenzvit, Mara, 30, 41, 74, 94, 95, 100, 106
Ross, Elena, 43, 53
Rosse, Izinara, 30
Rossner, María V, 45
Ruiz, Andrés M, 42, 60, 62, 69, 75
Rupil, Lucía L, 41, 73, 74
Ruybal, Paula, 38, 57

S

Saavedra, Miguel, 33, 70
Salas, Emir, 31, 109
Saldarriaga, Omar, 42, 69
Sales, M, 35
Salomón, Oscar D, 24
Salomón, Daniel O, 16, 45, 46, 50
San Vitale Villota, Giuliano A, 66, 68, 71
Sánchez, Daniel O, 41, 71, 88, 96, 98
Sánchez, Marianela, 56, 90
Sánchez, Vanesa R, 77, 78
Sanchez Bruni, Sergio, 41, 59
Sánchez Granel, María L, 100, 103, 108
Sánchez López, Edwin, 80
Sanchez Negrete, Olga, 50
Sander, Valeria A, 67, 80

Sanmarco, Liliana M, 40, 41, 66, 72
Sarmiento, Néstor F, 53
Saura, Alicia, 74
Sayago, Viviana S, 49
Sayé, Melisa, 84, 93, 101
Sbaraglini, M Laura, 31, 66, 86
Scaglione, Juan, 36
Scalise, M Luján, 40, 61, 62
Schenkman, Sergio, 24
Schijman, Alejandro G, 21, 43, 51, 60, 63, 92
Schlesinger, Mariana, 23, 107
Schnittger, Leonhard, 39, 45, 58, 73, 101, 102
Schoijet, Alejandra C, 83, 97, 107
Scioscia, Nathalia P, 47, 99
Scodellaro, Carla F, 44
Scollo, Karenina, 42, 57, 70
Selener, Mariana, 67
Serjan, María A, 36, 42, 70
Serra, Esteban, 23, 95, 108
Serradell, Marianela C, 41, 73, 74
Serrano Martinez, Marcos E, 83
Silber, Ariel M, 59, 110
Silva-Álvarez, Valeria, 41, 90
Simonetta, Sergio H, 100
Simonetti, Leandro, 105, 107
Simonetto, Antonella, 43, 53
Smircich, Pablo, 32, 40, 89, 91, 102, 105
Smith, Brian, 30
Solana, María E, 68, 77
Soprano, Luciana L, 82
Soria, Carola, 50
Sosa-Estani, Sergio, 34, 42, 57
Sotelo-Silveira, José R, 32, 40, 89, 105
Soto, Ariadna S, 77, 78
Steffin, Kevin, 54, 65, 84
Sternlieb, Tamara, 97
Stoore, Caroll, 51, 79, 80
Strauss, Mariana, 42, 56, 77, 87
Streiger, Mirtha, 34
Strobl-Mazzulla, Pablo H, 104
Stroppa, María M, 93, 94
Strull, Karen, 51, 79, 80
Stupirski, Juan, 36
Suasnábar, Santiago, 64, 109
Sulca, Nadia, 50
Sulleiro, Elena, 43, 60
Sülsen, Valeria, 67, 69
Susevich, ML, 25
Szajnman, Sergio H, 63
Szelag, Enrique A, 24, 45, 46, 50

T

Taboga, Oscar, 87
Talevi, Alan, 31, 66, 86
Tang, Qing, 26
Tarleton, Rick L, 36, 42, 72
Tasso, Laura M, 36
Tavernelli, Luis, 110
Teichmann, Aline, 28
Teixeira, Santuza MR, 102
Tekiel, Valeria, 41, 71, 88
Tellez-Iñón, María T, 85
Tolaba, Malvina, 50
Toloza, Ariel C, 40, 49
Tomasini, Nicolás, 38
Tomazic, Mariela L, 45, 102
Toro, Bruno, 70
Toscano, Marta, 36
Travi, Bruno, 42, 69
Trelis, María, 14

U

Unzaga, Juan M, 38, 54, 56, 65, 84, 85
Urban, Sinisa, 26
Uttaro, Antonio D, 42, 96

V

Vaca, Hugo R, 95, 100, 106
Vacchina, Paola, 42, 96
Valera Vera, Edward A, 84, 85, 93, 101
Valsecchi, Wanda, 92
Vanagas, Laura, 98
Vanrell, M Cristina, 31
Vargas, Verónica, 24
Vega, Bastián, 70
Velázquez, Elsa B, 42, 60, 62, 69
Velazquez Lopez, Daniela A, 42, 77, 87
Venturini, María C, 38, 54, 56, 65, 67, 83, 84, 85
Veramendi, Jon, 80
Vezzani, Darío, 44
Vicco, Miguel H, 27, 43, 58, 76, 81
Vilchez Larrea, Salomé C, 23, 107
Villar, Juan C, 18
Villar, Silvina R, 27
Villarroel, Sandro, 43, 60
Viotti, Rodolfo, 36, 42, 72, 78
Volcovich, Romina, 33, 42, 43, 55, 62
Volta, Bibiana J, 34

W

Ward, Gary E, 26
Wehrendt, Diana P, 85
Wilda, Maximiliano, 82

Wilkowsky, Silvina E, 42, 45, 53, 68, 75

Y

Yácono, María L, 80

Yapur, Noelia F, 88

Z

Zaha, Arnaldo, 28

Zamorano, P, 56

Zarate, Juan M, 107

Zarowiecki, Magdalena, 91

Zorzo, Lilian, 24

Zulantay, Inés, 33, 70