

Diseño gráfico: Claudia Nose



XXXII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología

18, 19 y 20 de noviembre, 2020

Claudia Nose
<https://claudianose.wixsite.com/claudia>

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente Adelina Riarte
Secretaria Silvia Longhi
Miembro Fernanda Frank

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente Fernanda Frank
Miembros Adelina Riarte
Cristina Motrán
Laura Cervi
María Paola Zago
Paola Barroso

COMISIÓN DIRECTIVA

Presidente Adelina Riarte
Vice-Presidente Fernanda Frank
Secretaria Mónica Esteva
Pro-Secretaria Laura Belauzarán
Tesorera Silvia Longhi
Pro-Tesorera Carolina Carrillo
Vocales Catalina Alba Soto
Karina Gómez
Vocales Suplentes Vilma Duschak
Silvina Wilkowsky

Reunión Auspiciada y Financiada por

CONICET



Estimados participantes de la Reunión Virtual de la Sociedad Argentina de Protozoología, socios, no socios, conferencistas extranjeros, invitados a las Mesas Redondas, estudiantes, a todos.

Deseo darles la bienvenida a la XXXII Reunión de nuestra Sociedad, en este caso con una modalidad virtual, una sociedad académica, con un crecimiento lento pero continuo y que desarrolla su actividad con altos estándares de calidad científica.

A esta Reunión se han inscripto más de 200 personas. Se desarrollará un Programa con un interesante y amplio abordaje científico. Se realizarán tres Conferencias Plenarias a cargo de distinguidos científicos como son los Dres. Alex Lucas de Australia, Juan Carlos Villar de Colombia y Caryn Bern de Estados Unidos; dos Mesas Redondas que se referirán a la modulación de la respuesta inmune y estrategias de diagnóstico y tratamiento en parásitos protozoarios y no protozoarios, por los Dres. F. Ribeiro Dias de Brasil, Ana Espino de Puerto Rico, Pilar Aoki de Argentina, Cecilia Casaravilla de Uruguay, María Jesús Pinazo de España, Silvia Moreno de Universidad de Georgia, Rojelio Mejía de Houston, Texas y Bruno Travi de Galveston, Texas, todos ellos de USA. Se presentarán 70 comunicaciones libres de diferentes temáticas a cuyos videos podrán acceder todos los días de la Reunión y será factible generar un flujo de preguntas y respuestas.

Deseo agradecer al Comité Científico por su esfuerzo, a la Comisión Directiva de la SAP en la organización y perseverante trabajo que no decayó en tiempos críticos por la pandemia que agobia al mundo y a la ciencia en particular a la que confronta con grandes desafíos. A todos muchas gracias y que la XXXII Reunión Virtual sea exitosa y disfrutemos de la misma.

A los 16 días del mes de noviembre de 2020 los saluda cordialmente



Presidente de la Sociedad Argentina de Protozoología

ÍNDICE GENERAL

PROGRAMA CIENTÍFICO

Miércoles 18

Modulación de la respuesta inmune por parásitos 9

Mesa Redonda 9

Conferencia Plenaria 9

Jueves 19

Parasitosis prevalentes en el país: estrategias de diagnóstico y tratamiento 10

Mesa Redonda 10

Conferencia Plenaria 10

Viernes 20

Conferencia de Clausura 11

RESÚMENES DE LOS TRABAJOS CIENTÍFICOS

Interleukin-15 (IL-15)/Interleukin-32 (IL-32)/vitamin D axis in *Leishmania* infection..... 13

Fasciola hepatica FABP incrementa la producción de macrófagos peritoneales grandes a través de TLR4 y bloquea la endotoxemia..... 14

Participación del Sistema Purinérgico en la enfermedad de Chagas humana y experimental..... 15

Inducción de macrófagos supresores durante la infección crónica experimental por la larva de *Echinococcus granulosus* 16

The hookworm pharmacopoeia for inflammatory diseases 17

Actualización en biomarcadores de respuesta terapéutica en la enfermedad de Chagas crónica..... 18

Targeting both host and parasite isoprenoid pathways for improved chemotherapy against the Apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*..... 20

Diagnóstico molecular de parásitos intestinales y tratamiento 21

Valor de la investigación aplicada en el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea y visceral 22

Validating treatments for Chagas Disease: What (why) have (not) we learned? 23

Enfermedades Olvidadas en tiempos del COVID 26

INMUNOLOGÍA

#66 -TcTASV antigens delivered in baculovirus confer protection against *Trypanosoma cruzi* infection, notably reducing levels of circulating trypomastigotes, parasite tissue load and mortality..... 27

#77 - Variaciones en los niveles de anticuerpos específicos para *Trypanosoma cruzi* en individuos serodiscordantes bajo seguimiento inmunológico 28

#74 - Uso de proteínas recombinantes marcadas con fluorescencia para identificar células B específicas de <i>Trypanosoma cruzi</i> en pacientes con enfermedad de Chagas crónica .	29
#46 <i>Trypanosoma cruzi</i> produces outward mechanical deformations on the host cell plasma membrane before its interaction with lysosomes	30
#47 - Participación de la Galectina-8 como molécula anti-inflamatoria durante la infección crónica por <i>Trypanosoma cruzi</i> : estudio en músculo esquelético	31
#65 - Efecto de fenofibrato sobre fibroblastos cardíacos y miocardiocitos infectados con <i>Trypanosoma cruzi</i>	32
#88 - Comparación del rol de PI3K clase I en macrófagos y cardiomiocitos murinos frente a la acción antiinflamatoria de Benznidazol	33
#78 - Sexual dimorphism of humoral immunity in experimental vaccines against <i>Trypanosoma cruzi</i>	34
#81 - La inmunización nasal con una formulación basada en TS protege contra la infección oral causada por <i>T. cruzi</i>	35
#110 - Análisis de un prototipo vacunal basado en una fracción de TS para su uso como vacuna terapéutica durante la infección crónica por <i>Trypanosoma cruzi</i>	36
#112 - Perfil de anticuerpos específicos contra la arginina quinasa de <i>Trypanosoma cruzi</i> en sueros de pacientes con enfermedad de Chagas crónica.....	37
#87 - In silico and molecular characterization of Q4D1D9_TRYCC, a novel high-molecular weight antigen from <i>Trypanosoma cruzi</i>	38
#98 - Circulating cytokine and chemokine profile in pregnant women with chronic <i>Trypanosoma cruzi</i> infection. Possible biomarkers of congenital Chagas transmission ...	39
#68 - La inmunización con una vacuna formulada con la proteína Kunitz y una nano estructura de cristal líquido como adyuvante disminuye la fecundidad de <i>Fasciola hepatica</i> en ovinos.....	40
#52 - Identification and characterization of a <i>Babesia bigemina</i> thrombospondin-related superfamily member, TRAP-1: a novel antigen containing neutralizing epitopes involved in merozoite invasion.....	41
#49 - El suero de pacientes con equinococosis quística reconoce a las histonas H4 y H2A provenientes de las células EGPE.....	42
BIOLÓGIA PARASITARIA	
#76 - Proteínas Rab de la vía endocítica se reclutan a la vacuola parasitófora de <i>Trypanosoma cruzi</i> y contribuyen al proceso de infección en células fagocíticas no profesionales.....	43
#124 - Búsqueda in silico de partners de la proteína con bromodominio TcBDF5	44
#22 - Diversidad Genética de <i>Diocotophyma renale</i> en el Litoral Argentino y Sur de Brasil	45
#106 - Análisis genómico de proteínas involucradas en el metabolismo de esfingolípidos en <i>Tetrahymena thermophila</i> e identificación de una ácido graso 2-hidroxilasa involucrada en la etapa sexual de la conjugación.....	46
#62 - Caracterización fenotípica de mutantes por delección para TSSA (Trypomastigote Small Surface Antigen) de <i>Trypanosoma cruzi</i>	47

#40 - Caracterización funcional de una metionina sulfóxido reductasa híbrida de <i>Trypanosoma cruzi</i>	48
#36 – Caracterización bioquímica y molecular de la interacción entre la aldo-ceto reductasa de <i>Trypanosoma cruzi</i> (TcAKR) y el Benznidazol	49
#73 - Role of clathrin-mediated endocytosis in <i>Giardia lamblia</i> encystation	50
#82 – Participación de histona-metil transferasas en el proceso de enquistamiento del parásito <i>Giardia lamblia</i>	51
# 71- Differences in the proteomic content of extracellular vesicles of two strains with different pathogenicity of <i>Giardia lamblia</i>	52
#60 - Caracterización funcional del motivo CEST de tripanosomátidos	53
#51 – Primera evidencia de una proteína de tipo glutarredoxina en <i>Entamoeba histolytica</i>	54
#53 - Role of the TcDOT1a and TcDOT1b isoforms in H3K76 differential methylation and their impact in <i>Trypanosoma cruzi</i> life cycle.....	55
#72 - TcAMPK: a cellular energy homeostasis hub regulator with unique characteristics in <i>Trypanosoma cruzi</i>	56
#54 – Búsqueda computacional de inhibidores de la nucleósido difosfato quinasa 1 de <i>Trypanosoma cruzi</i>	57
#57 - Análisis de la capacidad de unión a AMPc en potenciales efectores del nucleótido cíclico de <i>Trypanosoma cruzi</i>	58
#75 - Predicción de genes blanco de microRNAs en <i>Mesocestoides vogae</i> (syn. <i>M. corti</i>)	59
#27 - Extracellular RNA profile of <i>Echinococcus multilocularis</i> metacestodes with different tegument integrity	60
#90 - Optimization of the <i>in vitro</i> culture of <i>Taenia crassiceps</i> : cysticerci density and culture media composition effects on parasite growth and survival.....	61
#43 - Caracterización genómica y estructural de las proteínas ToIT de <i>Trypanosoma cruzi</i>	62
#86 - Inferring the function of <i>T. brucei</i> TbRRM1 via a model of its 3D structure	63
#108 - <i>Trypanosoma cruzi</i> trypomastigotes migrate across mammalian 3D-spheroids by a paracellular route in a protease-dependent manner	64
#107 - Comparative analyses of trans-sialidasas from African and American trypanosomes	65
#105 - Expresión de la proteína recombinante codificada por el gen Tc00.1047053511071.140 de <i>Trypanosoma cruzi</i>	66
#115 - Las proteínas de transcripción temprana (ETRAMPs) acotarían el rango de huéspedes de los parásitos de la malaria.....	67
#116 - Las peroxirredoxinas de <i>Trypanosoma cruzi</i> : enzimas multifuncionales claves para la supervivencia del parásito	68

#122 - Mecanismo de inhibición de la actividad arginina quinasa de *Trypanosoma cruzi* por parte de la delfinidina y predicción de su modo de interacción 69

DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

#91 - Picolinas como estructura base para el reposicionamiento de drogas en Chagas.. 70

#30 - Actividad antiparasitaria in vitro de derivados de alcaloides de origen natural..... 71

#31 - Efecto tripanocida de análogos estructurales del cristal violeta 72

#35 - Modelado in silico híbrido para la búsqueda de nuevos inhibidores de PDEs de tripanosomátidos 73

#44 – Tratamiento con isotretinoína en la infección crónica murina por *Trypanosoma cruzi* Nicaragua..... 74

#121 - Estudio de derivados de diaminas N,N'-disustituidas como inhibidores del transporte de putrescina en *Trypanosoma cruzi*..... 75

#103 - Sistemas microparticulados de benzimidazol diseñados para incrementar su eficiencia de disolución..... 76

#101 - Nanopartículas poliméricas de fenbendazol. ¿Una nueva alternativa para incrementar su disolución? 77

#95 - Ivermectina en tripanosomátidos: ¿Importinas α un posible blanco molecular?..... 78

#96 - Avances en el estudio del efecto de Ivermectina en la enfermedad de Chagas..... 79

#111 - Actividad leishmanicida del falvonol galangina, y posible mecanismo de acción *in vitro* 80

#120 - Evaluation of antigenic potential of proteins released by *Tritrichomonas foetus*.... 81

#42 - Evaluación de la PCR en tiempo real dúplex (qPCR) con sondas TaqMan para la detección de la infección por *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangre periférica congeladas anticoaguladas con EDTA 82

#63 - Establecimiento de una única curva estándar para cuantificación de las poblaciones naturales de *Trypanosoma cruzi* utilizando una secuencia consenso de ADN satélite sintética 83

#58 - Mapeo antigénico exhaustivo de TSSA (Trypomastigote Small Surface Antigen) de *Trypanosoma cruzi*..... 84

#89 - Caracterización genómica y evolutiva de TSSA (Trypomastigote Small Surface Antigen) de *Trypanosoma cruzi*..... 85

#55 - Copro-LAMP para la detección simultánea de *Toxocara canis* y *Toxocara cati* utilizando una estrategia de bajo costo 86

#97 - Evaluación de un multi-antígeno para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas congénita mediante la captura de IgM específica por ELISA 87

#119 - Detección microscópica y molecular de esporas de microsporidios en muestras de heces humanas 88

#99 – Métodos de ELISA y Western Blot para diagnóstico de toxocariosis humana en el NEA: validación de resultados mediante intercambio de con laboratorio de referencia ... 89

#104 – Estrongiloidiasis: una zoonosis negligenciada 90

#109 Case Report of Chagas Disease Reactivation: New Diagnosis Tool by Direct Microscopy Observation of Biopsy and its Preservation Fluid.....	91
--	----

EPIDEMIOLOGÍA Y VECTORES

# 45 - Rol de las mucinas TcSMUGL de <i>Trypanosoma cruzi</i> en la infección del insecto vector	92
#83 - Investigaciones de la fauna de flebótomos en área urbana endémica de Leishmaniasis en la ciudad de Corrientes	93
#67 - An overview of <i>Giardia</i> spp. in human, animal, and environmental settings of Argentina: Comprehensive analysis and geographical distribution of surveys reported in the last forty years	94
#123 - Transmisión congénita de <i>Trypanosoma cruzi</i> : factores asociados al cumplimiento del protocolo diagnóstico. Estudio de una población del Hospital Público Materno Infantil (HPMI) de la capital de la provincia de Salta	95

PROGRAMA CIENTÍFICO

Miércoles 18

Modulación de la respuesta inmune por parásitos

Moderadoras: Laura Cervi - Cristina Motrán

Mesa Redonda:

17-17:30h: *“Leishmaniasis and IL-32/IL-15”*.

Fátima Ribeiro-Dias. (Instituto de Patologia Tropical e Saude Publica, Universidade Federal de Goias, Goiania, Brazil).

17:30-18h: *“Fasciola hepatica FABP incrementa la producción de macrófagos peritoneales grandes a través de TLR4 y bloquea la endotoxemia”*.

Ana Espino (Universidad de la República Puerto Rico).

18-18:30h: *“Participación del Sistema Purinérgico en la miocarditis chagásica humana y experimental”*.

Pilar Aoki (CIBICI Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba).

18:30-19h: *“Macrófagos reguladores inducidos por la infección crónica con Echinococcus granulosus”*.

Cecilia Casaravilla (Universidad de la República, Uruguay).

Conferencia Plenaria:

19-20 h: *“The hookworm pharmacopoeia for inflammatory diseases”*

Alex Loukas (Australian Institute of Tropical Health & Medicine).

Jueves 19

Parasitosis prevalentes en el país: estrategias de diagnóstico y tratamiento

Moderadoras: Paolo Zago –Paola Barroso

Mesa Redonda:

17-17:30h: *“Actualización en biomarcadores de respuesta terapéutica en la enfermedad de Chagas crónica”*

María Jesús Pinazo. (Barcelona Institute for Global Health (ISGlobal), España).

17:30-18h: *“Targeting a mammalian host metabolic pathway for improved chemotherapy against the Apicomplexan parasite Toxoplasma gondii”.*

Silvia N.J. Moreno. (Center for Tropical and Emerging Global Diseases. Universidad de Georgia).

18-18:30h: *“Diagnóstico molecular de parásitos intestinales y tratamiento”.*

Rojelio Mejia. (National School of Tropical Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, Texas. USA).

18:30-19h: *“Valor de la investigación aplicada en el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea y visceral”*

Bruno Travi (UTMB Health. The University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA).

Conferencia Plenaria:

Moderadora: Adelina Riarte

“Validating treatments for Chagas Disease: What (why) have (not) we learned?”

Juan Carlos Villar. (Grupo de Cardiología Preventiva, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Bucaramanga, Colombia).

Viernes 20

Conferencia de Clausura:

Moderadora: Adelina Riarte

17-18h: *“Enfermedades Olvidadas en tiempos del COVID”*

Caryn Bern (University of California San Francisco, California, USA).

18-20h: **Asamblea General Ordinaria de la SAP**

RESÚMENES DE LOS TRABAJOS CIENTÍFICOS

Interleukin-15 (IL-15)/Interleukin-32 (IL-32)/vitamin D axis in *Leishmania* infection

Fátima Ribeiro-Dias

Laboratório de Imunidade Natural (LIN), Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública,
Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás

Brazil

fdias@ufg.br

American Tegumentary Leishmaniasis (ATL) is a parasitic disease caused by *Leishmania* protozoan. It is a neglected disease for which there is no vaccine and available treatments are toxic and cause parasite resistance. The immune responses against *Leishmania* are crucial to control the parasites and to understand the parasite-host relationship is fundamental for developing immunotherapies for ATL. The cytokine interleukin-32 (IL-32) has been detected in lesions of patients with cutaneous and mucosal leishmaniasis. It is induced by different species of *Leishmania* in human macrophages. IL-32 improves the macrophage response against the parasite in human macrophages *in vitro*, and, in addition, improves the control of cutaneous and visceral leishmaniasis (VL) in human IL-32 γ transgenic mouse model. There are evidences that the cytokine IL-15 is produced during leishmaniasis, especially in patients with VL. This cytokine increases macrophage leishmanicidal activity against *L. infantum*. The mechanisms of both cytokines IL-32 and IL-15 to control *Leishmania* spp. are not completely understood. Our group has investigated the role of IL-15 and IL-32 in the human macrophage capacity to control *L. braziliensis*, which is the most prevalent causal agent of ATL in Brazil. Treatment of monocyte-derived macrophages with rhIL-15 previously the exposure to *L. braziliensis* promastigotes reduced the phagocytosis and increased the killing of the parasites. Tumor necrosis factor (TNF α) and IL-32 were induced by rhIL-15 in uninfected cells. *L. braziliensis* infection did not alter the high levels of rhIL-15-induced TNF α and IL-32. Besides, nitric oxide (NO) was increased and parasite-induced IL-10 production was reduced. The leishmanicidal effects of rhIL-15 were mediated by NO and *L. braziliensis*-induced production of reactive oxygen intermediates (ROS). The treatment of macrophages with rhIL-32 γ increased the leishmanicidal activity when vitamin D (25D3) was present in high levels in the cultures. In this condition, treatment with rhIL-15 plus rhIL-32 γ leads to the highest control of the parasites. Moreover, rhIL-32 γ -mediated microbicidal effects were dependent on ROS and NO. Thus, priming of human macrophages with rhIL-15 and rhIL-32 γ besides to enhance oxidative mechanisms to control parasites, leads to the control of *L. braziliensis* infection by a vitamin D-dependent manner. These data strengthen the positive role of IL-15/IL-32/vitamin D axis in innate immunity inducing microbicidal pathways to control intracellular microorganism proliferation in human macrophages.

Fasciola hepatica FABP incrementa la producción de macrófagos peritoneales grandes a través de TLR4 y bloquea la endotoxemia

Ana M. Espino

Departamento de Microbiología

Laboratorio de Inmunología y Parasitología Molecular

Universidad de Puerto Rico

Recinto de Ciencias Medicas

Puerto Rico

ana.espino1@upr.edu

La sepsis causada por bacterias Gram-negativas es la consecuencia de una desenfadada infección que libera continuamente lipopolisacárido (LPS) en el torrente sanguíneo, lo cual desencadena una descontrolada respuesta inflamatoria sistémica que conduce al fallo multiorgánico y la muerte. Después de escudriñar la modulación inmunitaria ejercida por una proteína recombinante de *Fasciola hepatica* que enlaza ácidos grasos (FABP por sus siglas en inglés) denominada Fh15, nuestro grupo demostró que la adición de Fh15 a macrófagos murinos 1h antes de la estimulación con LPS suprime significativamente la expresión de citocinas proinflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-1 (IL-1) en vitro. El presente estudio tuvo como objetivo determinar si Fh15 podría ejercer un similar efecto antiinflamatorio en vivo usando un modelo de sepsis en ratones. Los resultados mas relevantes encontrados se resumen a continuación: (i) Fh15 suprimió numerosas citocinas / quimiocinas proinflamatorias séricas cuando fue inyectado por vía intraperitoneal (una sola inyección de 50 μ g) 1 h después de la exposición de los animales a una dosis letal de LPS, (ii) al mismo tiempo, Fh15 aumentó la población de macrófagos grandes (LPM, por sus siglas en inglés) en la cavidad peritoneal de los animales inyectados con LPS, y (iii) Fh15 redujo la expresión de CD38 en los macrófagos del bazo. La observación de que Fh15 promueve la persistencia de LPM en la cavidad peritoneal de los animales expuestos a LPS sugiere un mecanismo primario de modulación basado en el mantenimiento de un prolongado estado de reposo a pesar del estímulo inflamatorio. Por otro lado, la supresión de la expresión de CD38 en los ratones expuestos a LPS sugiere que Fh15 podría tener alguna función en la supresión de la activación de macrófagos por vía clásica (M1) y probablemente ejercer también algún efecto sobre señales de traducción celular y el tráfico de calcio, funciones que están directamente asociadas a CD38. Estos hallazgos presentan la primera evidencia de que Fh15 es un excelente modulador del contenido celular de la cavidad peritoneal y de la activación de macrófagos en vivo, respaldando el potencial anti-inflamatorio de Fh15 contra la endotoxemia.

Participación del Sistema Purinérgico en la enfermedad de Chagas humana y experimental

María del Pilar Aoki

Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET)

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba.

Argentina.

paoki@fcq.unc.edu.ar

La enfermedad de Chagas, causada por la infección con *Trypanosoma cruzi*, persiste como la principal enfermedad infecciosa cardíaca a nivel mundial. Luego de la infección la respuesta inmune innata y adaptativa controla la replicación del parásito, pero falla en eliminarlo completamente, y la mayoría de los individuos permanecen infectados de por vida. Un potencial sistema regulatorio capaz de inhibir mecanismos microbicidas lo constituye el sistema purinérgico que metaboliza el ATP extracelular, liberado en respuesta al influjo de células inmunes al tejido infectado, a adenosina (ADO) a través de la acción consecutiva de las ectoenzimas CD39 y CD73. Nuestro trabajo se focalizó en el análisis de la participación de la vía CD39/CD73/ADO en la cardiomiopatía de Chagas experimental y en la patología humana.

A estos fines ratones BALB/c fueron tratados con un inhibidor específico de CD73 (APCP), por tres días consecutivos a partir del 4to día post-infección (dpi). A nivel cardíaco, la inhibición de CD73 abrogó el cambio de macrófagos con un perfil tipo-M1 (CD11b+F4/80+CD86+CD206-) a uno tipo-M2 (CD11b+F4/80+ CD86-CD206+) que se observa en ratones no tratados a 7 dpi; además, indujo un significativo incremento de citoquinas pro-inflamatorias y producción de óxido nítrico mientras que disminuyó la frecuencia de linfocitos T CD4+IL-10+. Esto gatilla una potente respuesta microbicida que lleva a una disminución de la carga parasitaria en corazón y a preservar la funcionalidad cardíaca en la etapa crónica. En contraste con estos resultados, si bien ratones deficientes en la actividad de CD73 exhibían una potente respuesta inmune anti-microbiana y disminución en la carga parasitaria a nivel cardíaco, la parasitemia era mayor que los controles infectados salvajes, sugiriendo la existencia de un nicho favorable para el desarrollo de los parásitos fuera del corazón. En efecto, el balance de las señales purinérgicas (ATP/ADO) mostraron un moderado impacto en hígado y en tejido adiposo visceral, constituyendo éstos blancos permisivos para los parásitos.

Es conocido que el factor de transcripción HIF-1 α , regulador maestro de la adaptación metabólica a la hipoxia, incrementa la producción extracelular de ADO como un mediador endógeno anti-inflamatorio para proteger del daño tisular. En concordancia con esto, observamos que los monocitos de pacientes seropositivos presentan incrementada frecuencia en la expresión de HIF-1 α y mayor expresión de las ectoenzimas CD39 y CD73. Además, exhiben una mayor actividad glicolítica, funcionalidad y estado pro-oxidante en relación a los monocitos de donantes controles seronegativos. Mediante diferentes estrategias experimentales comprobamos que los monocitos infectados inducen la nitración de proteínas en la superficie de células T CD8+, lo que lleva a una disminución en su función citotóxica. Finalmente, observamos que explantos cardíacos de pacientes con enfermedad de Chagas terminal sometidos a trasplante, presentaban un incrementado número de células inmunes CD73+ y HIF-1 α + y que la presencia de éstas se correlaciona

con el grado de miocarditis y la carga parasitaria. Conclusiones: Los resultados sugieren que la maquinaria metabólica de ATP está funcionalmente involucrada en la respuesta innata y adaptativa contra *T. cruzi*, y que el balance de los metabolitos purinérgicos conducen el destino de la cardiomiopatía.

Inducción de macrófagos supresores durante la infección crónica experimental por la larva de *Echinococcus granulosus*

Cecilia Casaravilla, Leticia Grezzi, Álvaro Díaz
Facultad de Ciencias,
Universidad de la República,
Uruguay
ccasarav@gmail.com

Los helmintos son patógenos que se caracterizan por controlar fuertemente la respuesta inmune de sus hospederos, con el fin de favorecer su propia supervivencia. Un ejemplo extremo de esta capacidad de control lo constituye el estadio larvario de *Echinococcus granulosus*, el agente causal de la hidatidosis. La larva de este parásito (hidátide), se establece en órganos como hígado y pulmón como una estructura unilocular, llena de líquido y rodeada por una pared gruesa, alcanzando con el tiempo tamaños de hasta varios centímetros de diámetro. Por su parte, el sistema inmune del hospedero responde inicialmente a la infección, para luego hacerse aparentemente tolerante a la misma, con el resultado que las hidátides persisten en forma crónica, únicamente rodeadas de capas de colágeno con escasa presencia de infiltrado inflamatorio. Esto indica una fuerte capacidad inmunomoduladora por parte del parásito. La comprensión de este fenómeno representa el principal foco de interés de nuestro grupo de investigación.

En este trabajo, utilizando el modelo de infección secundaria experimental con *E. granulosus sensu lato*, analizamos cómo las hidátides afectan el fenotipo de los macrófagos de su entorno. Los macrófagos son células altamente plásticas, con funciones tanto en el inicio de la respuesta inmune, el combate de las infecciones, así como en la reparación de tejidos y regulación de la respuesta necesarias para retornar a la homeostasis. En el contexto de la infección por *E. granulosus*, diversos estudios histopatológicos muestran a estas células en un íntimo contacto con la superficie del parásito.

En nuestro estudio, evaluamos el efecto de la infección sobre las poblaciones celulares locales una vez establecida la infección crónica. Para ello, se inyectaron ratones C57BL6 con protoescoléces, vía intraperitoneal, y 6 meses más tarde se recuperaron las hidátides desarrolladas en la cavidad peritoneal y se analizaron las células presentes en la misma cavidad, con énfasis en el fenotipo inducido en los macrófagos (comparando con las células obtenidas de ratones control inyectados con solución salina isotónica y mantenidos por 6 meses en iguales condiciones que los ratones infectados). Observamos un aumento general en la celularidad, particularmente en términos de macrófagos y eosinófilos. Los macrófagos

de los animales infectados presentaron niveles mayores de expresión de marcadores de activación alternativa como Ym1 y Relm- α ; de acuerdo con esto también se observó una actividad mayor de la enzima arginasa-1 en las células de la cavidad. A pesar de que los macrófagos presentaban dicho fenotipo, típico de las infecciones por helmintos, no se logró determinar la presencia de citoquinas tipo Th2 en la cp (IL-4, IL-5 ni IL-13), ni tampoco IL-10. Esto sugiere una activación alternativa de macrófagos en ausencia de una respuesta T efectora fuerte. De hecho, tampoco se detectaron citoquinas tipo Th1 (IFN-gama,), ni Th17 (IL-17), ni otras citoquinas indicadoras de respuestas inflamatorias (IL-1beta, TNF-alfa, IL-12), a excepción de IL-6. Además, los macrófagos de ratones infectados mostraron una expresión alta del co-inhibidor PD-L1, junto con la molécula co-estimuladora CD80, pero no CD86, lo que sugiere una función supresora. Asimismo, se detectó en la cavidad una expansión significativa de células T reguladoras (CD4+FoxP3+), fenómeno que podría relacionarse con la presencia de PD-L1 en los macrófagos. Proximamente, analizaremos esta posible relación, y los eventuales efectos de la expresión de PD-L1 en los macrófagos sobre la población de células T efectoras locales, evaluando además su contribución a la supervivencia del parásito.

Financiación: CSIC (Universidad de la República), ANII (Uruguay)

The hookworm pharmacopoeia for inflammatory diseases

Alex Loukas

Australian Institute of Tropical Health & Medicine
James Cook University
Australia
alex.loukas@jcu.edu.au

We are currently experiencing a global pandemic of non-infectious diseases that result from a dysregulated immune system. The etiology of these diseases is unclear but dramatic shifts in the human biome as a result of improved hygiene and dietary changes plays a major role. While much emphasis has been placed on the role of the microbiota in governing inflammatory responses in the gut, the role of macroscopic parasites such as helminths is less well appreciated. We are shining a light on the role of hookworms in shaping the human immune system and protecting against the onset of diseases of modernity. This work entails human and animal studies looking at the impact of experimental hookworm infection in people and administering defined helminth molecular entities to mice to suppress inflammation associated with autoimmune, allergic and metabolic diseases. In the not-too-distant future we envisage a suite of helminth-derived therapies for treating diverse disorders from inflammatory bowel disease to type 2 diabetes.

Actualización en biomarcadores de respuesta terapéutica en la enfermedad de Chagas crónica

María-Jesús Pinazo

Barcelona Institute for Global Health (ISGlobal)- Hospital Clínic

España

mariajesus.pinazo@isglobal.org

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), es endémica y prevalente en 21 países de Iberoamérica. Más de 7.000 personas mueren cada año debido a la misma, siendo este número similar a las muertes relacionadas con la enfermedad reportadas hace una década¹. Actualmente, 7.2 millones de personas viven con enfermedad de Chagas y 180.000 nuevas infecciones ocurren cada año, siendo los países más afectados Bolivia, Argentina, México y Brasil². Además, debido a los movimientos migratorios de las últimas décadas, el impacto de la enfermedad se ha extendido a países como Estados Unidos y España, donde se estima hay >300.000 y >65.000 afectados, respectivamente.³

Históricamente, la infección por *T. cruzi* ha sido una de las grandes enfermedades olvidadas. Esto se ha debido a varios factores: por un lado, ha existido la noción incorrecta acerca de la causa de las complicaciones crónicas de la enfermedad, a lo que se han sumado problemas de acceso a diagnóstico y tratamiento⁴. Una vez ha sido reconocido que la persistencia del parásito en los tejidos afectados está en la raíz de los eventos fisiopatológicos observados, nos encontramos con otras barreras importantes.

Existen dos medicamentos para tratar la infección por *T. cruzi*, benznidazol (BNZ) y nifurtimox (NFX), ambos con un perfil de seguridad deficiente que obliga a la interrupción de un alto porcentaje de regímenes de tratamiento.^{5,6} El desarrollo de nuevos fármacos y la evaluación de eficacia de los actuales en pacientes en fase crónica de la enfermedad, se ha visto muy limitada por la falta de biomarcadores de respuesta terapéutica temprana: actualmente el “gold-standard” reconocido para evaluar la respuesta terapéutica en la fase crónica de la enfermedad es la negativización de las pruebas serológicas. La seronegativación de anticuerpos en estadio cónico de la infección por *T. cruzi* tarda en ocurrir en la mayor parte de los casos entorno a una década.^{7,8} Ello dificulta enormemente tanto el seguimiento clínico de los pacientes como los ensayos clínicos con nuevos medicamentos.

En las últimas décadas se ha asistido a un interés creciente, aunque por el momento insuficiente, en la búsqueda de biomarcadores de progresión de la infección por *T. cruzi* a

¹ Naghavi M, et al. (600 collaborators) (2017) Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 390:1151-210.

² Vos T, et al. (727 collaborators) (2017) Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 390:1211-59.

³ Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop*. 2010; 115(1-2):22-7.

⁴ Moriana S, Ortiz G, Fanjul G. Breaking the silence. 2016. Global Chagas Coalition. Accessible at: <http://www.coalicionchagas.org/en/scientific-papers>

⁵ Crespillo-Andújar C, Venanzi-Rullo E, López-Vélez R, Monge-Maillo B, Norman F, López-Polín A, et al. Safety profile of benznidazole in the treatment of chronic Chagas disease: experience of a referral centre and systematic literature review with meta-analysis. *Drug Saf*. 2018; 41(11):1035–48.

⁶ Pinazo MJ, Muñoz J, Posada E, López-Chejade P, Gállego M, Ayala E, et al. Tolerance of benznidazole in treatment of Chagas' disease in adults. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(11):4896–9

⁷ Fabbro DL, Streiger ML, Arias ED, Bizai ML, Del Barco M, Amicone NA. Trypanocide treatment among adults with chronic Chagas disease living in Santa Fe City (Argentina), over a mean follow-up of 21 years: parasitological, serological and clinical evolution. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007; 40(1):1–10.

⁸ Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Bertocchi G. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment. *Ann Intern Med*. 2006; 144(10):724-34.

enfermedad de Chagas, y de biomarcadores de respuesta terapéutica en este mismo contexto. Aunque las interacciones huésped-parásito y su papel en la progresión de la enfermedad aún no se conocen por completo, se han identificado varios biomarcadores del huésped de la infección por *T. cruzi* durante la última década. Existen, por tanto, dos grandes grupos de biomarcadores progresión y de respuesta terapéutica en la infección por *T. cruzi*: enfermedad de Chagas: los derivados del parásito y los producidos por el huésped tras la interacción parásito-huésped⁹.

Entre los **biomarcadores del parásito**, se incluyen varias proteínas y glicoproteínas aisladas del parásito (F29)¹⁰, así como grupos de proteínas, proteínas recombinantes, proteínas purificadas de diferentes formas del parásito^{11,12} y glicoproteínas derivadas del parásito y neoglucoconjugados sintéticos¹³. También se incluyen en este grupo las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real^{14,15} o el uso de ligandos de ARN (aptámeros)¹⁶.

En relación a las **moléculas derivadas del huésped** hay tres grandes grupos identificados: a) marcadores inmunológicos (citoquinas y marcadores de superficie) provocados por la respuesta celular del huésped a la infección; b) biomarcadores bioquímicos, como marcadores de hipercoagulabilidad,¹⁷ fragmentos de apolipoproteína A1 (ApoA1),¹⁸ factor de necrosis tumoral (TNF) o factor de crecimiento transformante beta (TGFβ)¹⁹; y c) marcadores inflamatorios de daño cardíaco (e. por ejemplo, el péptido natriurético de tipo B (BNP) o la proteína C de alta sensibilidad), que han sido tal vez los más estudiados.^{20,21}

Cada una de estas moléculas identificadas se encuentra en un estado de desarrollo diferente en cuanto a su uso en contexto de ensayos clínicos para la evaluación de respuesta terapéutica. De todos ellos, el único validado para uso en seguimiento de pacientes en la práctica clínica fuera del contexto de ensayos clínicos, y solo en centros con la capacidad técnica para su implementación, han sido los test de amplificación de ácidos nucleicos (tests de PCR). El resto de moléculas identificadas se encuentran aún en fase de prueba en el contexto de ensayos clínicos.

⁹ Pinazo MJ, Thomas MC, Bustamante J, Almeida IC, Lopez MC, Gascon J. Biomarkers of therapeutic responses in chronic Chagas disease: state of the art and future perspectives. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015 May;110(3):422-32.

¹⁰ Fabbro D, Velazquez E, Bizai ML, Denner S, Olivera V, Arias E, Pravia C, Ruiz AM. Evaluation of the ELISA-F29 test as an early marker of therapeutic efficacy in adults with chronic Chagas disease. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2013;55(3):S0036-46652013000300167.

¹¹ Cooley G, Etheridge RD, Boehlke C, Bundy B, Weatherly DB, Manning T, Haney M, Postan M, Laucella S, Tarleton RL 2008. High throughput selection of effective serodiagnostics for *Trypanosoma cruzi* infection. PLoS Negl Trop Dis 2: e316.

¹² Egui A, Thomas MC, Fernández-Villegas A, Pérez-Antón E, Gómez I, Carrilero B, Del Pozo Á, Ceballos M, Andrés-León E, López-Ruz MÁ, Gainza E, Oquifera E, Segovia M, López MC. A Parasite Biomarker Set for Evaluating Benznidazole Treatment Efficacy in Patients with Chronic Asymptomatic *Trypanosoma cruzi* Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Sep 23;63(10):e02436-18.

¹³ Ortega-Rodríguez U, Portillo S, Ashmus RA, Duran JA, Schocker NS, Iniguez E, Montoya AL, Zepeda BG, Olivares JJ, Karimi NH, Alonso-Padilla J, Izquierdo L, Pinazo MJ, de Noya BA, Noya O, Maldonado RA, Torrico F, Gascon J, Michael K, Almeida IC. Purification of Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Mucins from *Trypanosoma cruzi* Trypomastigotes and Synthesis of α-Gal-Containing Neoglycoproteins: Application as Biomarkers for Reliable Diagnosis and Early Assessment of Chemotherapeutic Outcomes of Chagas Disease. Methods Mol Biol. 2019;1955:287-308.

¹⁴ Alonso-Padilla J, Gallego M, Schijman AG, Gascon J. Molecular diagnostics for Chagas disease: up to date and novel methodologies. Expert Rev Mol Diagn. 2017 Jul;17(7):699-710.

¹⁵ Sulleiro E, Muñoz-Calderon A, Schijman AG. Role of nucleic acid amplification assays in monitoring treatment response in chagas disease: Usefulness in clinical trials. Acta Trop. 2019 Nov;199:105120.

¹⁶ Nagarkatti R, de Araújo FF, Gupta C, Debrabant A 2014. Aptamer based non-PCR non-serological detection of Chagas disease biomarkers in *Trypanosoma cruzi* infected mice. PLoS Negl Trop Dis 8: e2650.

¹⁷ Pinazo MJ, Posada Ede J, Izquierdo L, Tassies D, Marques AF, de Lazzari E, Aldasoro E, Muñoz J, Abras A, Tebar S, Gallego M, de Almeida IC, Reverter JC, Gascon J. Altered Hypercoagulability Factors in Patients with Chronic Chagas Disease: Potential Biomarkers of Therapeutic Response. PLoS Negl Trop Dis. 2016 Jan 4;10(1):e0004269.

¹⁸ Ndao M, Spithill TW, Caffrey R, et al (2010) Identification of novel diagnostic serum biomarkers for chagas' disease in asymptomatic subjects by mass spectrometric profiling. J Clin Microbiol 48(4):1139–1149.

¹⁹ Curvo EO, Ferreira RR, Madeira FS, Alves GF, Chambela MC, Mendes VG, Sangeris LHC, Waghbi MC, Saraiva RM (2018) Correlation of transforming growth factor-beta1 and tumour necrosis factor levels with left ventricular function in Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz. 113(4):e170440.

²⁰ Okamoto EE, Sherbuk JE, Clark EH, et al (2014) Biomarkers in *Trypanosoma cruzi*-infected and uninfected individuals with varying severity of cardiomyopathy in Santa Cruz, Bolivia. PLoS Negl Trop Dis. 8(10):e3227.

²¹ García-Álvarez A, Sitges M, Heras M, Poyatos S, Posada E, Pinazo MJ, Regueiro A, Gascon J, Sanz G. Endothelial function and high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with Chagas disease living in a nonendemic area. Rev Esp Cardiol. 2011 Oct;64(10):891-6.

Es urgente identificar y validar biomarcadores para la evaluación temprana de la eficacia terapéutica. Debido a la complejidad de la etapa crónica de la enfermedad, parece más probable la opción de utilizar una batería de biomarcadores en lugar de depender de uno solo para evaluar la respuesta al tratamiento y/o anticipar la progresión patológica de la infección.⁷

Targeting both host and parasite isoprenoid pathways for improved chemotherapy against the Apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*

Zhu-Hong Li, Melissa A. Sleda, Ranjan Behera, Catherine Li and **Silvia N J Moreno**
Center for Tropical and Emerging Global Disease
University of Georgia, Athens, GA,
USA
smoreno@uga.edu

Toxoplasma gondii is an opportunistic pathogen that cause serious disease in immunocompromised patients. Treatment for these parasitic diseases is challenged by lack of effective drugs. New therapeutic agents or combinations of drugs to treat these infections are urgently needed. We are exploring the development of therapeutics that combine targeting the host and the parasite isoprenoid synthesis pathway as a novel approach to develop highly effective treatments. Synthesis of isoprenoid precursors in Apicomplexa occurs in the apicoplast and is essential. The central enzyme that uses these precursors, the Farnesyl diphosphate Synthase (TgFPPS), is bifunctional in *Toxoplasma* and surprisingly it is not essential for parasite growth in vitro. In addition, genetic ablation of the TgFPPS gene in the parasite did not alter their isoprenoid composition. We discovered that during intracellular growth parasites salvage the products of TgFPP, Farnesyl diphosphate (FPP) and/or Geranyl Geranyl diphosphate (GGPP) from the host. This salvage appears to be important for parasite growth because inhibitors of the host isoprenoid pathway like statins also inhibited parasite growth. Statins target the mevalonate pathway (absent in *T. gondii*), which generates FPP and GGPP in the host cell. Additionally, we showed that combining inhibitors of the host and the parasite pathway resulted in a synergistic effect that protected mice from a lethal infection with an hypervirulent strain of *Toxoplasma*. Interestingly very low doses of the combined inhibitors were highly effective. Downstream to TgFPPS, the long prenyl synthase (TgPPS), was essential for parasite growth. Additionally, specific bisphosphonates inhibited both TgPPS enzymatic activity and parasite growth. In summary, we found that the isoprenoid pathway could be inhibited at several steps for effective inhibition of parasite growth. One approach involves a double-hit strategy combining inhibitors of host and parasite pathways and a second approach would be specific inhibitors of enzymes that synthesize longer isoprenoid metabolites like TgPPS

Diagnóstico molecular de parásitos intestinales y tratamiento

Rojelio Mejia

Assistant Professor of Infectious Diseases and Tropical Medicine

Laboratory of Clinical Parasitology and Diagnostics

National School of Tropical Medicine

Baylor College of Medicine, Houston, Texas,

USA

rmejia@bcm.edu

Los helmintos y los protozoos intestinales se distribuyen ampliamente por todo el mundo y son más frecuentes en las regiones tropicales y subtropicales. Los helmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Strongyloides stercoralis* y *Trichuris trichiura*) afectan a más de 2000 millones de personas en todo el mundo. Estas especies producen una amplia gama de síntomas, desde asintomáticos hasta diarrea, dolor abdominal, malestar general y debilidad que pueden afectar la capacidad de aprendizaje y deterioro del crecimiento físico. Los anquilostomas causan una pérdida crónica de sangre intestinal que resulta en anemia, lo que afecta significativamente la salud. Las infecciones intestinales por protozoos (principalmente *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*) también tienen una importancia considerable para la salud pública. En el norte de Argentina, principalmente en las regiones de la selva tropical de los Yungas y el Chaco, varios informes indican tasas de prevalencia superiores al 20%, con algunas áreas que se acercan al 50%.

Recientemente, herramientas moleculares como la PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) han mejorado el diagnóstico de parásitos gastrointestinales. La qPCR multiparalela y multiplex tiene la ventaja de permitir la detección de muchas especies de parásitos utilizando una muestra de heces, así como la capacidad de determinar la intensidad de la infección de cada especie.

Valor de la investigación aplicada en el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea y visceral

Bruno L. Travi

University of Texas Medical Branch

Galveston, Texas,

USA

brltravi@utmb.edu

En América Latina, incluyendo Argentina, la leishmaniasis cutánea (LC) es la forma más frecuente de la enfermedad. Sin embargo, la leishmaniasis visceral en humanos (LV) y caninos (LVC) ha cobrado mayor importancia y su control involucra el diagnóstico tanto en pacientes como en el reservorio doméstico. En los últimos 10 años se han publicado trabajos que utilizan pruebas serológicas (≈ 50) o moleculares (≈ 72), pero muy pocas están validadas y adoptadas por Salud Pública en distintos países. Las pruebas serológicas tienen un valor limitado en LC pero son más informativas en LV ya que el aumento en los títulos de anticuerpos se correlaciona con la progresión de la enfermedad. El PCR es la prueba de referencia para evaluar otros métodos diagnósticos gracias a su sensibilidad y especificidad usualmente superior al 95%. Sin embargo, el diagnóstico de leishmaniasis en zonas endémicas utiliza la microscopia y la biopsia de lesiones como métodos estándar. Su baja sensibilidad (50-70%) marca la necesidad de reemplazarlos por métodos sencillos, de bajo costo y procesados por personal con entrenamiento básico. Las pruebas moleculares de amplificación isotérmica del ADN como LAMP y RPA cumplen estos requisitos y tienen potencial para su implementación en laboratorios descentralizados con escasa infraestructura de salud. Ambas pruebas requieren una mayor estandarización, pero han alcanzado una sensibilidad y especificidad entre el 90% y 98% dependiendo de las distintas investigaciones. Se describirán las ventajas y desventajas de estas tecnologías frente al PCR y los métodos estándar, así como las posibilidades de implementación en zonas con recursos limitados.

Validating treatments for Chagas Disease: What (why) have (not) we learned?

Juan Carlos Villar

Fundación Cardioinfantil – Instituto de Cardiología, Bogotá,
Colombia
jvillar@unab.edu.co

Treatment for Chagas disease (for those diagnosed with *Trypanosoma cruzi* infection in order to prevent the incidence of disease, or delay its complications) remains elusive. A number of factors (from socio-political to biological complexity, weak scientific structure and research methodology) may explain the little success of many decades of research. This presentation will discuss the paths taken to validate treatments so far and offer possible explanations for their disappointing results. It will also propose some changes needed for a better response in the future.

Once serology was available, scientists were somehow perplexed on the chronic and silent nature of chronic *T. cruzi* infection. The advent of trypanocidal agents on the 1960s made this a logical treatment option (not needing much rationale to give it a try), particularly for acute and congenital infection. In the 70s, a consensus of experts coined the concept of “indeterminate” phase of infection. Such a construct and observations left little room for trypanocidal treatment for those cases, where testing for any response would be obscure. It also formed the idea that supportive (seen perhaps more as “palliative”) treatment was perhaps the only feasible approach for cases in the “determinate” phase, mostly cardiac disease.

A period with more attention on describing clinical features and understanding disease mechanisms than treatment followed. Frustration over the uncertainty of treating patients led health authorities to prioritize vector control as prevention strategy, hoping for a growing impact over the years. The WHO launched the “southern cone initiative” in 1991 to reduce transmission. That move lowered, necessarily, the priority and resource allocation for clinical research. But experiences in the field, while implementing such strategy, also stimulate researchers to articulate the interventions targeting the houses with attempting a treatment for their occupants with trypanocidal agents.

Formal tests of treatments for the “indeterminate phase” came in also in the 1990s. It had already been long since the randomized clinical trial (RCT) had become the standard to identify effective interventions in health care. Despite a number of lessons around the importance of that tool, one observational study in adults reporting positive results attracted a great deal of attention and credibility. Along with that study, two more RCTs in Children testing Benznidazole (BNZ) showed positive changes in terms of antibodies (and PCR in one of the trials later on), triggered big enthusiasm for trypanocidal treatment. The first meta-analysis in the field came at the turn of the century, generating an overall, evidence-based status of trypanocidal treatment at the time. By analyzing those, but also other (similar, but not as popular) studies, positive results were restricted to parasite-related outcomes. Results on patient-related outcomes (clinical events, such as death or disease progression) were scarce, inconclusive (statistically imprecise) and inconsistent across studies. It therefore warned on the need for more trials to validate a treatment for Chagas disease.

While the field considered the question for children solved, the enduring uncertainty around treatment for chronic infection brought two major RCTs in adults to deliver more definitive answers. The TRAENA trial (in Argentina) and the BENEFIT trial (more internationally) tested together over 3500 individuals receiving BZN or placebo, recording both parasite and patient-related outcomes. The TRAENA trial, including mostly participants in the “indeterminate” phase, showed for the first time that adults may also respond positively in parasite-related outcomes. The BENEFIT trial, including patients in the “determined” phase, with varying degrees of Chagas Chronic Cardiomyopathy (CCC), confirmed the finding (restricted to some, but not all countries). But such positive findings translated into a reduction of patient-related outcomes in neither of both trials.

The BENEFIT trial, designed and lead from Canada, brought the largest common effort in the field and a hopeful, long wait for results until 2015. It found a small, but consistent reduction in a variety of clinically-important outcomes, not reaching statistical significance. Based on the outcomes under study (e.g. cardiac death, arrest or ventricular tachycardia, hospitalizations for heart failure among others) a reduction of 10-15% for those devastating events after a 60-day treatment may be still important for patients, families and health care systems. The trial results, a 7% reduction (which by chance may have gone from a 19% reduction to a 7% excess of risk) are not ruling out such a clinically-important effect size. Whether or not the choice of population (high risk of events, but probably low responsiveness) explains these results, which means the study was underpowered (i.e. the investigators set an effect size that was implausible under that choice), will need a confirmation. Unfortunately, the field missed the chance of identifying reliably the standard treatment after a huge and unprecedented investment of time, money and hope. A second, perhaps similar trial will be now needed to rule out whether these results are false-negative. While BENEFIT was ongoing, there was a parallel work building along with a growing confidence in trypanocidal therapy. The scientists were aware that the available agents (BZN, and the far less-tested Nifurtimox) were not well tolerated enough to make an easy and wide use. At some point also, availability of those agents was also a threat for health systems. Thus, a number of bench and animal studies sought to identify some new and much needed alternative trypanocidal options. Several agents were tested at different labs, eventually identifying ergosterol synthesis inhibitors (posaconazole particularly), as the most active alternative available against *T. cruzi*.

A new wave of smaller trials started both before and after BENEFIT, in order to identify better forms to deliver trypanocidal therapy. This 2010 wave of new trials tested alternative agents (mainly posaconazole) either alone or in combination with BZN. It also tested alternative dose regimes of BZN and, to a lesser extent, of Nifurtimox and other nitroimidazolic compounds (e.g. Fexinidazole). These trials examined the balance between efficacy (based on PCR results after a year of treatment) and tolerance, including typically 200-300 participants. Some of these studies included for the first time populations beyond Brazil and Argentina, where most studies had taken place. Moreover, some of these trials have originated in Spain and the US, in collaboration with Bolivia, and more recently Colombia. Inclusion of Andean and Central American countries (Salvador participated in BENEFIT) allows more biological diversity to study response to trypanocidal therapy. This will enhance the so-called external validity of the trial results, of critical importance in Chagas disease.

Overall, the above trials so far found neither additional nor sustained effect of alternative regimes beyond treatment. Trials of new regimes of BZN suggest that trypanocidal response remains with shorter spans of treatment. On the other hand, the best evidence available

shows that BZN does not have trypanocidal effect among patients north of the Amazon basin. The clinical research community has kept itself busy working on identifying the best possible trypanocidal therapy. For many clinical scenarios, looking for parasitic clearance in a treatment will be a vicious circle until we could be certain that it prevents disease or more definitive clinical outcomes. We could say that clearing a newborn, a child or a young adult from parasites is more than desirable and will very likely prevent disease. However, how long the host should be infected to develop disease if treated is a matter of debate. For the other, big majority of cases –the many with chronic infection that goes undetected- unless this is resolved, parasitic clearance is still a non-validated surrogate outcome of disease. Some other treatment approaches and opportunities are still open. The field of acute, now orally-transmitted infection or re-activation needs a lot more trials of trypanocidal therapy, where it is highly relevant. Also, clinicians often make unsubstantiated extrapolations for patients with chronic *T. cruzi* infection when trying generic treatments in use for patients with other cardiomyopathies. A wide number of ancillary, supportive therapies alone or in combination should require specific validation for Chagas to take full advantage of these opportunities (or avoid unnecessary and elevated costs). An overstated focus on trypanocidal therapy, or at least on parasitic clearance, as treatment response is revealing and misleading. It is showing a partial understanding of the complex, alternative mechanisms of disease, and it also leaves most of the burden of disease out of sight. Clinical, patient-important outcomes should be those driving attention, focus and resources. The field cannot, and will not, move without validating a (at least one) treatment approach. That is, once we see a reduction of such outcomes after receiving an intervention, relatively to a comparable, control group. We need trials more than ever, but probably less, larger trials that involve more varied populations, hence highly simple and pragmatic for its conduct. That should be built in a deeper recognition of the lessons learned, an understanding of the complex nature of disease, and the need for an even larger collaboration from health services in charge of patients across most countries. People carrying *T. cruzi* infection, mostly originating from deprived rural environments across Latin America, deserves more and better. A comprehensive, effective solution is complex and perhaps will only come along with more definitive improvements on social determinants, general wellbeing and health care systems. But in the interim, scientific community must come together and work more collectively to pursue them. Greater political will translating into actions and resources, a more effective scientific leadership translating into wider collaboration and integrated research, and specially putting patient's agenda first, will ease their situation and pave those needed solutions.

Enfermedades Olvidadas en tiempos del COVID

Caryn Bern

University of California San Francisco,
San Francisco California,
USA
Caryn.Bern2@ucsf.edu

The concept of “Neglected Diseases” developed in the late 1990s to highlight the failure of market forces to result in investment in drugs and other interventions for diseases like leishmaniasis, Chagas disease and sleeping sickness. The Nobel Prize awarded to MSF in 1999 enabled the founding of Drugs for Neglected Diseases initiative (DNDi). DNDi and other non-profit entities have made substantial progress in addressing therapeutic and diagnostic needs for these diseases. However, the public health community has not directly addressed the web of poverty and societal disadvantage that forms the matrix within which these diseases thrive. For example, in Guaraní villages in the Bolivian Chaco, vector control has been elusive and the most affected communities have the same high Chagas disease incidence as 20 years ago. Some aspects of this failure are biological, but the marginalization of these communities and their distance from urban power centers allows them to be largely ignored by those with the resources to make a difference. In the context of the visceral leishmaniasis (VL) elimination campaign in Bihar state in India, VL incidence has decreased by >90% since 2007; however, outbreaks continue to occur in villages across the state, nearly always in predominantly low caste neighborhoods. The greatly improved surveillance system established as part of the elimination program has enabled recognition of these outbreaks, but as yet lacks a system for timely identification and intervention. The conditions under which lower caste populations live have been shown to increase the risk of VL transmission. Yet the specific factors responsible are still not well understood, but include migration for work and lack of a household latrine. The topic of COVID-19, especially in wealthy countries like the United States, raises disturbing and complicated echoes of these themes. The factors that determine the disproportionate risk in the most vulnerable populations include working and living conditions – just like those that affect risk of Chagas disease and VL. The impact of COVID-19 highlights the extent to which the concept of “neglected diseases” is less important than that of “neglected populations”. For the control of neglected diseases and COVID-19 alike, public health interventions will fall short without a successful effort to address basic socioeconomic inequalities.

INMUNOLOGÍA

#66 -TcTASV antigens delivered in baculovirus confer protection against *Trypanosoma cruzi* infection, notably reducing levels of circulating trypomastigotes, parasite tissue load and mortality

- Masip, Yamil Ezequiel (IIBIO - UNSAM) yemasip@gmail.com
- Molina, Guido (INTA Castelar)
- Caeiro, Lucas (IIBIO - UNSAM)
- Molinari, María Paula (INTA Castelar)
- Tekiel, Valeria (IIBIO - UNSAM)

TcTASV, medium size multigenic family unique to *Trypanosoma cruzi*, is present in all strains of the parasite and expressed in the life cycle stages of the mammalian host. Subfamilies TcTASV-A and TcTASV-C are the most numerous, are in contact with the host immune system and show differential expression patterns: TcTASV-A is expressed intracellularly in amastigotes and trypomastigotes while TcTASV-C is expressed at trypomastigote surface and secreted (Garcia et al, 2010; Bernabó et al, 2013; Floridia et al, 2016, 2019). Previous vaccination assays with TcTASV-C resulted in delayed appearance of bloodstream trypomastigotes but impacted only slightly in mortality, after challenge with highly virulent strain RA (TcVI). The immune response was essentially humoral, with negligible cellular response (Caeiro et al, 2018). A vaccination protocol with TcTASV could be improved by triggering also a cellular response against TcTASV-A. As heterologous antigen displayed at baculovirus (BV) capsid has been reported to induce cellular responses, we engineered a recombinant BV that accurately express TcTASV-A (BV-TcTASV-A) fused to VP39, major nucleocapsid protein. Mice were first immunized with rTcTASV-C adjuvanted with aluminum hydroxide, followed by a boost with BV-TcTASV-A & rTcTASV-C. This scheme induced a strong anti-TcTASV-C humoral response along with CD8+/IFN γ + and CD4+/IFN γ + T cell populations after restimulation with TcTASV-A and TcTASV-C, respectively. When challenged with RA strain, BV-TcTASV immunized mice presented lower levels of circulating trypomastigotes and 95% survival (vs 60% BVwt and 0% PBS). Additionally, we evaluated tissue damage on day 75 p.i. Samples of heart, skeletal muscle and spleen presented a notable decrease in the relative levels of parasites in tissues (98.5% decrease compared to PBS; qPCR). We conclude that this immunization protocol elicited a robust immune response against TcTASV family, which could be relevant in protection against *T. cruzi*.

#77 - Variaciones en los niveles de anticuerpos específicos para *Trypanosoma cruzi* en individuos serodiscordantes bajo seguimiento inmunológico

- Natale, Maria Ailen (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben) ailen.natale@gmail.com
- Elías, María Josefina (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben)
- De Rissio, Ana María (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben)
- Álvarez, María Gabriela (Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón)
- Albareda, María Cecilia (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben)
- Fichera, Laura Edith (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben)
- César, Gonzalo (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben)
- López-Albizu, Constanza (INP Dr. Mario Fatała Chaben)
- Scollo, Karenina (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben)
- Bertocchi, Graciela (Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón)
- Lococo, Bruno (Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón)
- Laucella, Susana Adriana (INP Dr. Mario Fatała Chaben)

En la enfermedad de Chagas, un resultado serológico discordante es aquel en el que se observa una prueba reactiva de las tres realizadas: ELISA, hemaglutinación e inmunofluorescencia. La serodiscordancia continúa siendo un desafío debido a que, en su mayoría, los individuos con resultados serodiscordantes (SD) no reciben seguimiento clínico ni presentan indicación de tratamiento etiológico. En nuestro laboratorio, hemos demostrado que los individuos SD no sólo tienen linfocitos T específicos para *T. cruzi* en su circulación, sino que éstos poseen mayor capacidad funcional y mayor producción de IL-2, lo que sugiere que estos individuos podrían haber estado expuestos a *T. cruzi* y eventualmente resolvieron la infección. Utilizando la base de datos del Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben se realizó una búsqueda de individuos que hayan presentado datos serodiscordantes en los últimos dos años y se los invitó a repetir las pruebas serológicas. A partir de los nuevos datos obtenidos y de los anteriores disponibles en la base de datos, encontramos tres perfiles de comportamiento serológico: 1- individuos con hallazgos serodiscordantes sostenidos a lo largo del tiempo (mediana de seguimiento = 4 años; rango 1-16 años); 2- individuos SD en los que se observó una negativización completa (mediana de seguimiento = 3 años; rango = 1-18 años); y 3- individuos que mostraron hallazgos serológicos positivos y a lo largo del tiempo mostraron serodiscordancia o negativización completa (mediana de seguimiento = 14 años, rango 2-21 años). Para evaluar el estado inmunológico de los individuos SD, evaluamos la frecuencia de diferentes subpoblaciones de monocitos en sangre periférica. Los individuos SD mostraron frecuencias aumentadas de monocitos no clásicos que ejercen una potente función antiinflamatoria y de reparación de tejidos, en comparación con individuos no infectados. La frecuencia de monocitos clásicos e intermedios no mostró alteraciones en los individuos SD. En conclusión, al menos una proporción de los individuos SD han sido previamente seropositivos para la infección por *T. cruzi* y muestran un aumento de monocitos reparadores no clásicos, lo que respalda aún más que estos individuos probablemente eliminaron la infección, brindando información sobre el significado de la serodiscordancia para la infección por *T. cruzi*.

#74 - Uso de proteínas recombinantes marcadas con fluorescencia para identificar células B específicas de *Trypanosoma cruzi* en pacientes con enfermedad de Chagas crónica

- Cesar, Gonzalo (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben) gon_cdna@hotmail.com
- Shen, Huifeng (Center for Tropical and Emerging Global Diseases, USA)
- Natale, Maria Ailen (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben)
- White, Brooke E. (Center for Tropical and Emerging Global Diseases, USA)
- Alvarez, Maria Gabriela (Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón)
- Lococo, Bruno (Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón)
- Tarleton, Rick L (Center for Tropical and Emerging Global Diseases, USA)
- Laucella, Susana A (INP Dr. Mario Fatala Chaben- Hospital Interzonal “Eva Perón”)

Los bajos niveles de linfocitos T y B específicos de patógenos durante las infecciones crónicas constituyen una limitación importante en el estudio de distintas infecciones humanas incluyendo la infección con *Trypanosoma cruzi*. Con el objetivo de detectar células B específicas de *T. cruzi* en pacientes con enfermedad de Chagas crónica, se utilizó un método de doble marcación de proteínas recombinantes de *T. cruzi* con los fluorocromos Dylight 550 y Dylight 650, las que al combinarse con células mononucleares periféricas permite la identificación de linfocitos B que expresen en su superficie inmunoglobulinas específicas para estas proteínas, mediante citometría de flujo. Las proteínas recombinantes derivadas de *T. cruzi* AnL-E02, FAB-A04, Kn80 y Kn104 se concentraron utilizando dispositivos de filtro centrífugo Amicon Ultra 2 y se conjugaron con los fluorocromos Dylight 550 y Dylight, utilizando kits comerciales. El agregado de los marcadores fenotípicos CD19, CD3, CD10, CD21, CD27, CD38, CD73 y HLA-DR permitió también establecer el grado de diferenciación y activación de las poblaciones B identificadas. Como controles se realizaron tinciones de fluorescencia menos uno (FMO) y tinciones con células mononucleares periféricas de individuos no infectados. En nueve de 11 pacientes se detectaron linfocitos B específicos para 1-3 proteínas evaluadas. Los linfocitos B específicos de *T. cruzi* comprendían preponderantemente linfocitos B naive, de memoria en reposo y memoria atípica; con menores niveles de plasmablastos, células plasmáticas y linfocitos B activados. Nuestros hallazgos muestran una preponderancia de linfocitos B no activados específicos para este grupo de proteínas recombinantes derivadas de *T. cruzi* y la posibilidad de cuantificar y caracterizar el fenotipo de linfocitos B en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.

#46 *Trypanosoma cruzi* produces outward mechanical deformations on the host cell plasma membrane before its interaction with lysosomes

- Cueto, Juan Agustín (IHEM) cueto.juanagustin@gmail.com
- Romano, Patricia S. (IHEM)

Trypanosoma cruzi trypomastigote is highly motile due to its vigorous flagellum. The trypomastigote motility has a major role in the invasion of the host cell. As the parasite actively enters the cell, the vacuole that transiently harbors it, called parasitophorous vacuole (PV), is taking form. This plasma membrane-derived vacuole gradually acquires lysosomal markers as LAMP1 and VAMP7. Particularly interesting is the fact that the flagellar motility persists for a few minutes after the invasion. This explains why, once inside the cell, internalized trypomastigote often causes a marked deformation of the plasma membrane called protrusion. In this work, we aim to characterize this phenomenon. To achieve this, we transfected HeLa cells with a fluorescent plasma membrane marker (PM-GFP) and then infected for different time periods. By mean of fluorescence confocal microscopy, we find that the occurrence of protruding parasites reaches a peak (22,2 %) at 15 minutes post-infection and then decay abruptly during the first hour. In order to study a possible link between protrusions and PV interaction with lysosomes, we co-transfected cells with PM-GFP y LAMP1-RFP plasmids. After increasing periods of infection, the percentage of protruding parasites decreased, whereas LAMP1 enrichment at the PV's membrane increased, suggesting a process in which lysosomes inhibit the intracellular trypomatigotes motility. Electron microscopy showed that protruding parasites are enveloped by two layers of membrane, one from the vacuole and a second from the evaginated plasma membrane. We can conclude that the protrusions occur mainly during the first 15 minutes post-infection and the subsequent interaction with lysosomes would inhibit this phenomenon. Our results open a new perspective on the biology of *Trypanosoma cruzi*-host cell interaction based on a biomechanical point of view.

#47 - Participación de la Galectina-8 como molécula anti-inflamatoria durante la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*: estudio en músculo esquelético

- Saborit, Juan Ignacio (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas de la Universidad Nacional de San Martín) jsaborit@iibintech.com.a
- Bertelli, Adriano (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas de la Universidad Nacional de San Martín)
- Postan, Miriam (Instituto de Parasitología “Dr. M. Fatała Chaben”)
- Leguizamón, María Susana (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas de la Universidad Nacional de San Martín)

Las galectinas son un grupo de lectinas de unión a beta-galactósidos que modulan la respuesta inmune tanto en eventos homeostáticos como patológicos. Ante la controversia sobre el rol de galectina-8 (Gal-8) en el desarrollo de inflamación, decidimos analizar su papel en el contexto inflamatorio inducido por *T. cruzi* (cepa Ac UDT I) como modelo de infección crónica, en ratones C57BL/6J Wild-Type (iWT) y ratones deficientes de Gal-8 (iGal-8KO). Dado el tropismo preferencial del parásito por el músculo esquelético (ME), analizamos la inflamación y el desarrollo de fibrosis en ME a los 4 meses de infección. La sobrevivencia, los valores de parasitemia, y la carga parasitaria tisular (evaluada por PCR), no mostraron diferencias entre ambos grupos. El análisis histológico de la inflamación reveló resultados concordantes con la evaluación de células infiltrantes por citometría de flujo: los ratones iGal8-KO mostraron, respecto a los ratones iWT, un incremento en la cantidad de leucocitos totales ($p=0,0348$), linfocitos T totales ($p=0,0383$), linfocitos T CD4+ ($p=0,0155$), macrófagos M1 ($p=0,0077$), monocitos totales ($p=0,0331$), monocitos Ly6C+ High ($p=0,0482$) y Ly6C+ Low ($p=0,0311$), y neutrófilos ($p=0,0105$); indicando un aumento del proceso inflamatorio en ausencia de Gal-8. Por el contrario, no se observaron diferencias entre poblaciones de linfocitos B, células mieloides totales, macrófagos M2 y células dendríticas. La expresión de Gal-3 (marcador de fibrosis), TGF- β , y CCL-2, evaluadas por RT-PCR, mostraron un aumento significativo en ratones iGal8-KO ($p=0,0165$; $0,0200$; y $0,0320$ respectivamente). Nuestros resultados, si bien son preliminares, concuerdan con los datos que obtuvimos en tejido cardíaco, y señalan que el aumento de la inflamación no está relacionado a la carga parasitaria sino a la ausencia de Gal-8. En conjunto, estos resultados muestran la participación de Gal-8 como una molécula anti-inflamatoria en el complejo contexto de la infección crónica por *T. cruzi*.

#65 - Efecto de fenofibrato sobre fibroblastos cardíacos y miocardiocitos infectados con *Trypanosoma cruzi*

- Penas, Federico Nicolás (INBIRS-UBA, CONICET) federicopenas@hotmail.com
- Comito, Rocío (INBIRS-UBA, CONICET)
- Pieralisi, Azul (INBIRS-UBA, CONICET)
- Cevey, Ágata (INBIRS-UBA, CONICET)
- Rada, Jimena (INBIRS-UBA, CONICET)
- Mirkin, Gerardo (IMPAM-UBA, CONICET)
- Goren, Nora (INBIRS-UBA, CONICET)

En la miocardiopatía chagásica crónica, la persistencia parasitaria contribuye a la inflamación crónica y a la muerte de miocardiocitos (mc), fenómenos que conllevan a fibrosis e insuficiencia cardíaca. Los fibroblastos (fb) son células que abundan en el tejido cardíaco. Cuando se activan, se diferencian a miofibroblastos, expresan α -actina de músculo liso (α -SMA), mediadores inflamatorios y producen altas cantidades de proteínas de MEC, participando de manera activa en la fibrosis cardíaca. PPAR α es un receptor nuclear activado por ligandos, altamente expresado en corazón y otros órganos. Nuestro grupo, reportó que el fenofibrato (fen), ligando de PPAR α , es capaz de restaurar la función cardíaca, prevenir la fibrosis y reducir la expresión de mediadores inflamatorios en un modelo de Chagas experimental. En este trabajo demostramos que el fen modula la respuesta inflamatoria en cultivos primarios neonatales murinos de fb cardíacos y mc infectados con *T. cruzi* (*Tc*). Primero, caracterizamos los cultivos de fb y mc. Analizamos la expresión de Troponina C (TpC), proteína específica de músculo cardíaco. Observamos que en los fb no se evidencia expresión de TpC, a diferencia de los mc. Luego, estudiamos el efecto de fen sobre la producción de NO en fb y mc infectados con *Tc*. Observamos que fen inhibe la producción de NO en ambos cultivos infectados. Además, determinamos que fen inhibe la expresión de α -SMA en fb infectados con *Tc*. Por último, analizamos el efecto de fen sobre la vía de NF- κ B en fb y mc infectados con *Tc*. Demostramos que fen inhibe la activación de dicha vía en ambos tipos celulares. Los resultados aquí mostrados demuestran la activación de la respuesta inflamatoria luego de la infección con *Tc* en fb y mc y el efecto modulador de fen sobre dichas células. Estos hallazgos son la base de futuros estudios que aborden la contribución de los fb a la fibrosis cardíaca, en un modelo de Chagas experimental, y los efectos de fen sobre este proceso.

#88 - Comparación del rol de PI3K clase I en macrófagos y cardiomiocitos murinos frente a la acción antiinflamatoria de Benznidazol

- Mascolo, Paula Denise (Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA (INBIRS, UBA-CONICET)) paulamascolo@gmail.com
- Cevey, Agata (INBIRS (UBA-CONICET))
- Perialisi, Azul Victoria (INBIRS (UBA-CONICET))
- Sequeyra, Aldana Soledad (INBIRS (UBA-CONICET))
- Penas, Federico Nicolás (INBIRS (UBA-CONICET))
- Mirkin, Gerardo Ariel (IMPAM-UBA, CONICET)
- Goren, Nora Beatriz (INBIRS (UBA-CONICET))

La enfermedad de Chagas es causada por la infección por *Trypanosoma cruzi*. La persistencia parasitaria induce una respuesta inflamatoria sostenida que puede desencadenar la remodelación y pérdida de la función cardíaca. Benznidazol (Bz), un fármaco tripanocida de primera línea, ejerce efectos inmunomoduladores además de su actividad parasiticida. Previamente, hemos demostrado que el Bz ejerce sus efectos inhibiendo la vía pro-inflamatoria NF- κ B a través de la vía STAT3/SOCS3, en un cultivo primario de cardiomiocitos, mediante un mecanismo dependiente de IL-10. Esta vía no solo es activada a través de JAK, sino que también puede ser activada por PI3K. En resultados preliminares en ese modelo encontramos que el aumento de SOCS3 era dependiente de PI3K. Asimismo, inhibiendo PI3K, Bz no podía inhibir ni la expresión de NOS2 ni la liberación de NOx. En vistas de estos hallazgos, y dado que los macrófagos son tienen un papel crítico en respuesta a la infección cardíaca, nos resultó de interés evaluar estos parámetros en células del sistema inmune. Para ello, macrófagos de la línea celular RAW 264.7 fueron pretratados con 15 μ M de Bz y estimulados con 1 μ g/ml de LPS, en presencia o ausencia de LY294002, un inhibidor específico de PI3K. Como efecto de la inhibición comprobamos que ante el estímulo con LPS y el tratamiento con Bz, no se fosforila p70S6K. En estas condiciones, Bz no puede aumentar la expresión de SOCS3 (evaluada por RT-qPCR) ni inhibir la liberación de NOx. Cuando comparamos los resultados obtenidos en ambos tipos celulares, observamos que no hay diferencias significativas en la expresión de SOCS3 ni en la activación de P70S6K mientras que en los macrófagos la liberación de NOx aumenta significativamente con respecto a los cardiomiocitos. Estos resultados preliminares sugieren que el Bz ejerce sus efectos anti-inflamatorios, al menos en parte, a través de la vía PI3K tanto en células inmunes como cardíacas.

#78 - Sexual dimorphism of humoral immunity in experimental vaccines against *Trypanosoma cruzi*

- Bulfoni Balbi, Camila (IDICER) camibulfoni@gmail.com
- Pacini, María Florencia (Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario)
- Dinatale, Brenda (Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario)
- González, Florencia (Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario)
- Villar, Silvina (Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario / CiPREB)
- Farré, Cecilia (Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario / CiPREB)
- Chapo, Gustavo (CiPREB)
- Prochetto, Estefanía (Laboratorio de Tecnología Inmunológica - UNL)
- Marcipar, Iván (Laboratorio de Tecnología Inmunológica - UNL)
- Cabrera, Gabriel (Laboratorio de Tecnología Inmunológica - UNL)
- Pérez, Ana Rosa (Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario / CiPREB)

There is evidence that vaccine efficacy is affected by diverse parameters such as age, nutritional status, genetic diversity, pre-existing diseases and sex. Broadly, biomedical research carried out in animals tend to analyse only one sex, assuming the results apply to the other sex. Thus, the inclusion of both sexes in studies of immune function becomes increasingly imperative.

Historically, vaccine research against *T. cruzi* has been focused on antibody response evaluation. In this context, we aim to evaluate possible variations in humoral response induced after experimental vaccine administration against *T. cruzi* between BALB/c males (M) and females (F). The immunization protocol consisted of three doses of trans-sialidase (TS)-based vaccine formulations inoculated at the nasal mucosa (10µg of TS emulsified in ISCOM-like (ISPA) or 5t54r4c-di-AMP adjuvants). Controls were treated with saline solution (SS) or TS alone. Fifteen days after the last immunization, blood samples were obtained from the facial vein to determine the levels of specific antibodies (IgG1/IgG2a). Later, mice were challenged orally with 3000 parasites of Tulahuén strain. Parasitemia and clinical score were evaluated until day 100 post-infection.

TS-specific IgG2a and IgG1 levels in TS+c-di-AMP or TS+ISPA immunized F were enhanced compared to SS or treated with TS alone ($p < 0.05$ in both cases). In comparison, M showed no differences in both subclasses of antibody levels between all groups, and in addition, their levels were always minor than F. After oral infection, M showed more enhanced parasitemias than F, being significantly different between TS+ISPA and TS+c-di-AMP (i.e. 17 dpi, F vs M $p < 0.05$ in both cases). Moreover, circulating parasites disappear one week later in M than F. Clinical symptomatology was also less evident in F than M (Clinical score, $p < 0.05$).

We can conclude that there are significant differences in the immunogenic and protective effects of our vaccine formulations between M and F.

#81 - La inmunización nasal con una formulación basada en TS protege contra la infección oral causada por *T. cruzi*

- Pacini, Maria Florencia (Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER)) flo.pacini@hotmail.com
- Florencia Belén, González (IDICER)
- Dinatale, Brenda (IDICER)
- Bulfoni Balbi, Camila (IDICER)
- Farre, Cecilia (Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB))
- Derio, Marisa (IDICER)
- Armando, Melisa (IDICER)
- Villar, Silvina (IDICER)
- Espariz, Martin (Laboratorio de Fisiología y Genética de Bacterias Lácticas (IBR))
- Blancato, Victor (Laboratorio de Fisiología y Genética de Bacterias Lácticas (IBR))
- Magni, Christian (Laboratorio de Fisiología y Genética de Bacterias Lácticas (IBR))
- Marcipar, Iván (Laboratorio de Tecnología Inmunológica – UNL)
- Perez, Ana Rosa (IDICER, CIPREB - FCM - UNR)

Actualmente no existen vacunas que prevengan la Enfermedad de Chagas. En este contexto, evaluamos el efecto profiláctico de la inmunización con el antígeno de *T. cruzi* Transialidasa (TS) producido en *L. lactis* y emulsionado en los adyuvantes ISPA o di-AMP-c. Ratones hembras BALB/c (5/grupo) se inocularon por vía nasal con dichas formulaciones (3 dosis, 1 cada 15 días). Los controles recibieron solución salina (SS) o TS sola. Quince días luego de la última dosis, los animales se infectaron vía oral con 2500 *T. cruzi* cepa Tulahuén. Los animales inmunizados con TS+ISPA y TS+di-AMP-c presentaron mayores niveles de IgG1 e IgG2a en plasma, y mayor relación IgG2a/IgG1 respecto del resto ($p < 0,05$; ELISA). Además, el grupo TS+di-AMP-c reflejó un incremento en los niveles de IgA en heces ($p < 0,05$ vs resto; ELISA). La respuesta celular específica (hipersensibilidad retardada) fué mayor en los grupos TS+ISPA y TS+di-AMP-c ($p < 0,05$ vs resto). Todos los animales presentaron parasitemas evidentes, excepto los del grupo TS+di-AMP-c, que desarrollaron una infección subclínica confirmada por análisis moleculares, y menor afectación clínica (score clínico, $p < 0,05$ vs SS). A los 28 dpi los animales se sacrificaron, y se obtuvieron esplenocitos para medir la producción de INF- γ en linfocitos CD8+ estimulados in vitro con TS (citometría de flujo). Se observó un incremento en la proporción de células CD8+INF- γ + en todos los grupos respecto del grupo SS ($p < 0,05$). Por otra parte, se realizó un análisis anatomopatológico (hemotoxilina-eosina) del músculo cardíaco, esquelético y tejido adiposo. Se cuantificó el área de infiltrado inflamatorio y el daño tisular mediante imágenes de microscopía. El grupo TS+di-AMP-c presentó una clara disminución en ambos parámetros en todos los tejidos ($p < 0,05$ vs. no inmunizado). Esto demuestra que la administración nasal de una formulación basada en TS+di-AMP-c sería un buen candidato vacunal para generar protección contra la infección oral por *T. cruzi*.

#110 - Análisis de un prototipo vacunal basado en una fracción de TS para su uso como vacuna terapéutica durante la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*

- Prochetto, Estefania (UNL) estefiprochetto@hotmail.com
- Bontempi, Iván (UNL)
- Rodeles, Luz (UNL)
- Cabrera, Gabriel (UNL)
- Lupi, Giuliana (UNL)
- Marcipar, Iván (UNL)

Previamente nuestro grupo de trabajo describió una vacuna para uso profiláctico altamente protectora contra *T. cruzi*, basada en un fragmento de la Transialidasa formulada con adyuvante ISPA: TSf-ISPA. En el presente trabajo se evaluó la utilidad terapéutica de esta formulación y si presenta sinergia al ser usada con el parasiticida Benznidazol (Bz). Ratones BALB/c fueron infectados con 1000 *T. cruzi* de la cepa Tulahuen inoculados por vía intradérmica en la almohadilla plantar y se dividieron en los siguientes grupos: grupo Bz (tratado con Bz), grupo TSf (tratado con TSf-ISPA), grupo TSf+Bz (recibió tratamiento mixto), grupo PBS (sin tratar) y grupo NI (sin infectar sin tratar). La vacuna terapéutica TSf-ISPA se aplicó en tres dosis subcutáneas a los días 100, 110 y 120 post infección (pi). El Bz fue administrado diariamente por vía oral a partir del día 135 pi y durante 30 días en una dosis de 100 mg/kg. A los días 98, 133 y 196 pi la parasitemia en sangre fue evaluada por qPCR y al día 273 pi se realizaron electrocardiogramas (ECG) de los distintos grupos. Se observó que los distintos tratamientos fueron capaces de disminuir el nivel de parásitos con respecto al grupo PBS. Del análisis de los ECG se vio que el grupo PBS prolongó los valores del complejo QRS e intervalo QT y que de todos los grupos tratados, el grupo TSf+Bz fue el que logró reducir significativamente los valores de ambos parámetros. De este análisis se observó también que el grupo PBS mostró alteraciones en todos sus ECG (100%), el grupo Bz presentó alteraciones en el 80% y que el grupo TSf tuvo alteraciones en un 60% de sus ECG. Solo el grupo TSf+Bz no presentó alteraciones. Estos resultados parciales muestran que nuestra vacuna es promisorio para ser utilizada como vacuna terapéutica y que la aplicación en conjunto con el Bz mostró sinergia reduciendo las alteraciones cardiacas encontradas. Queda por analizar la histología de corazón así como la respuesta celular obtenida por citometría de flujo

#112 - Perfil de anticuerpos específicos contra la arginina quinasa de *Trypanosoma cruzi* en sueros de pacientes con enfermedad de Chagas crónica

- Valera-Vera, Edward (IDIM (UBA-CONICET) edwardverval@gmail.com)
- Miranda, Mariana (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)
- Reigada, Chantal (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)
- Sayé, Melisa (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)
- Pereira, Claudio (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)
- Gómez, Karina (INGEBI-CONICET Dr. Héctor N. Torres)

La arginina quinasa (AK) es una enzima comúnmente encontrada en diversos grupos de invertebrados, presente también en algunos tripanosomátidos como *Trypanosoma cruzi*, en el cual además se sabe que es una de las proteínas que secreta dicho organismo. Los homólogos de AK de varios invertebrados se han reportado como alérgenos, induciendo una respuesta inmune humoral caracterizada por producción de anticuerpos de tipo IgE. Dado que la AK es una proteína altamente conservada, sería esperable que su homóloga en *T. cruzi* produzca una respuesta inmune similar. Por esta razón quisimos conocer si en pacientes con enfermedad de Chagas crónica se producían anticuerpos específicos contra la AK y de qué clases. Para ello, en el presente trabajo se analizó la presencia de anticuerpos IgE, IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4 mediante ensayos de inmuno-adsorción ligado a enzimas (ELISA) en muestras de suero de pacientes con enfermedad de Chagas crónica, divididos en dos grupos de acuerdo a si presentaban o no alteraciones electrocardiográficas, y usando como grupo control suero de individuos no infectados. También se predijeron con herramientas informáticas los posibles epítopes B presentes en la proteína.

Se observaron diferencias en IgE e IgG4 específicas contra la AK del parásito entre los individuos infectados y los no infectados, y no con las otras subclases de IgG, mientras que en la comparación entre individuos sin alteraciones cardíacas y con alteraciones del electrocardiograma no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos. Varios de los epítopes B predichos corresponden a péptidos alérgicos previamente descritos para homólogos en otros organismos.

Estos resultados indican que la proteína induce a linfocitos B a producir anticuerpos ineficientes en el control de la infección, asociados a una respuesta Th2. Esto abre el camino a más estudios que permitan establecer la relevancia de la respuesta ante ésta proteína en el contexto de la infección con el parásito.

#87 - In silico and molecular characterization of Q4D1D9_TRYCC, a novel high-molecular weight antigen from *Trypanosoma cruzi*

- Ossowski, Micaela (INGEBI) micaelaossowski@hotmail.com
- Gallardo, Juan Pablo (INGEBI)
- Niborski, Leticia (Centre de recherche de l'Institut Curie)
- Mariño, Karina Valeria (IBYME)
- Santos, Javier (FCEyN, UBA.)
- Potenza, Mariana (INGEBI)
- Gómez, Karina Andrea (INGEBI)

Chagas illness, a potentially life-threatening disease, is an infection caused by the hemoflagellate parasite *Trypanosoma cruzi*. By phage display technology, involving cDNA isolated from B cells of patients with chronic Chagas disease (CCC), we selected a recombinant monoclonal antibody, named scFv 6B6, which recognized a protein of ~300 kDa only expressed in *T. cruzi*. Although preliminary, data showed that only plasma from patients with CCC but not those from with Leishmaniasis or non-infected subjects reacted against 6B6 antigen. In this work, immunoprecipitation coupled to mass spectrometry revealed that 6B6 antigen was a hypothetical protein of 323 kDa, named Q4D1D9_TRYCC. According to phylogenetic analysis, this protein is highly conserved throughout evolution in all lineages of *T. cruzi* so far identified but lacks orthologues in other kinetoplastid parasites. In parallel, bioinformatic approaches established that this protein has the most commonly post-translational modifications (acetylation, glycosylation, among others) identified in *T. cruzi* and the B cell epitopes predictors mapped that almost the entirely protein sequence is immunogenic. Structural predictions using RaptorX server allowed us to foretell six structural domains of Q4D1D9_TRYCC. Interestingly, we found that this protein presents pyrroloquinoline quinone-dependent alcohol dehydrogenase (PQQ) domains, an enzyme function that has not been yet documented in Trypanosomatids. We hypothesize that the enzymatic activity of Q4D1D9_TRYCC may be involved in some detoxification process exerted by the parasite during the mammalian host invasion. To date, our finding allowed the identification of a novel *T. cruzi* protein as a promising diagnostic candidate for Chagas disease. Moreover, the inhibition of its enzymatic activity could be tested for the development of new drugs against *T. cruzi*.

#98 - Circulating cytokine and chemokine profile in pregnant women with chronic *Trypanosoma cruzi* infection. Possible biomarkers of congenital Chagas transmission

- González, Carolina (Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS "Malbrán") caro.gonzalez327@gmail.com
- Natale, Maria Ailen (INP "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS Malbrán/CONICET)
- Volta, Bibiana (INP "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS Malbrán/CONICET)
- Bustos, Patricia Laura (INP "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS Malbrán)
- Milduberger, Natalia (INP "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS Malbrán)
- Perrone, Alina (INP "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS Malbrán)
- Laucella, Susana (INP "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS Malbrán/CONICET)
- Bua, Jacqueline (INP "Dr. Mario Fatala Chaben"-ANLIS Malbrán / CONICET / CAECIHS-UAI)

Congenital transmission of *T. cruzi* infection has great epidemiological relevance since it is the only way of transmission that cannot be controlled.

With the aim of characterizing the immunological profile of *T. cruzi*-infected pregnant women regarding the parasite congenital transmission, we determined the plasma levels of IL-1 β , IL-6, IL-17A, monokine induced by IFN- γ (MIG/CXCL9) and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1/CCL2) (by Cytometric Bead Array), the levels of IL-4, IL-5, IL-10, IL12p70, IFN- γ , TNF- α and IL-15 (by ELISA) and parasitemia (estimated by qPCR).

A principal component analysis (PCA) was conducted to determine whether any unique groups of cytokines could be associated with congenital transmission. The PCA analysis revealed three very distinct clusters, with the group of infected pregnant women who gave birth to uninfected children clearly segregated from uninfected mothers and infected pregnant women who gave birth to congenitally infected children positioned intermediately between those two groups, supporting a differential network of mediators affecting congenital transmission.

A Spearman's correlation test was used to analyze the association between cytokines concentration and parasitemia. The result matrix was constructed with a two-dimensional visualization technique called "heat map" analysis. Correlation analysis revealed that parasitemia was differently associated with the levels of cytokines and chemokines between pregnant women who gave birth to healthy children and mothers who gave birth to congenitally infected children.

An univariate analysis showed that high parasitemia in *T. cruzi*-infected pregnant women together with low plasma levels of IFN- γ , IL-15, TNF- α and IL-17, low TNF- α /IL-10 ratio, and high IL-12 levels are factors associated with an increased probability of *T. cruzi* congenital transmission.

#68 - La inmunización con una vacuna formulada con la proteína Kunitz y una nano estructura de cristal líquido como adyuvante disminuye la fecundidad de *Fasciola hepatica* en ovinos

- Ahumada, María del Rosario (Universidad Católica de Córdoba)
9500711@ucc.edu.ar
- Silvane, Leonardo (CIBICI-CONICET Fac. Cs Químicas UNC)
- Marin, Constanza (CIBICI CONICET Fac. Cs Químicas UNC)
- Maletto, Belkys Angélica (CIBICI-CONICET Fac.de Cs Químicas, UNC)
- Palma, Santiago Daniel (UNITEFA, CONICET Dpto de Farmacia Fac.de Cs Químicas, UNC)
- Allemandi, Daniel Alberto (UNITEFA, CONICET Dpto de Farmacia Fac.de Cs Químicas, UNC)
- Bettolli, Fernando (Fac.Ciencias Agropecuarias Universidad Católica de Córdoba)
- Sanabria, Rodrigo (Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), CONICET/UNSAM)
- Pruzzo, Cesar (FCV Universidad Nacional de La Plata)
- Mena, Cristian (CIBICI-CONICET Fac. Cs Químicas UNC)
- Chiapello, Laura (CIBICI-CONICET Fac. Cs Químicas UNC)
- Cervi, Laura (Dpto de Bioquímica Clínica CIBICI-CONICET Fac. Cs Químicas. UNC)

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria que afecta al ganado vacuno, ovino y produce grandes pérdidas económicas. El triclabendazol es el antiparasitario de elección, sin embargo se ha reportado la presencia de resistencia a este fármaco. El desarrollo de vacunas contra *Fasciola hepatica* es una alternativa de control sustentable. No existe en la actualidad una vacuna contra este parásito aplicable en distintas especies con altos niveles de protección. En este trabajo se muestran los resultados de un ensayo con la proteína del parásito tipo Kunitz (FhKTM) como candidato vacunal en ovinos. FhKTM es un inhibidor de proteasas, altamente expresado por el parásito y su función es inhibir la acción de las catepsinas. Esta proteína está acoplada a un sistema adyuvante novedoso, el acetato de ascorbilo combinado con CpG (CpG-ODN/Coa-ASC16), el cual forma una nano estructura de probada capacidad para desarrollar una respuesta de tipo Th1 y Th17. Se inmunizaron corderos con FhKTM/CpG-ODN/Coa-ASC16 y un grupo control sin FhKTM. En ambos grupos se realizó la infestación experimental con las metacercarias del parásito. Se utilizaron como variables de respuesta: recuento de huevos, cantidad de adultos y total de huevos/adulto. Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el programa Infostat utilizando la prueba T para diferencia de medias y ANOVA para evaluación de varianzas. Los resultados indicaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$) entre los valores de recuento de huevos totales entre grupos. El test de conteo de huevos mostró un 87.9% de reducción en el recuento en los animales vacunados vs el grupo control, y un 83% de reducción en la fecundidad determinada como la relación entre Huevos/Gusanos en los vacunados vs el grupo control. Los resultados muestran que la vacuna propuesta induce una reducción en la fecundidad de los parásitos, lo que tendría consecuencias en la capacidad de *F. hepatica* para propagar la infección.

#52 - Identification and characterization of a *Babesia bigemina* thrombospondin-related superfamily member, TRAP-1: a novel antigen containing neutralizing epitopes involved in merozoite invasion

- Montenegro, Valeria (IABIMO, INTA-CONICET) vale86_19@hotmail.com
- Paoletta, Martina (IABIMO, INTA-CONICET)
- Jaramillo Ortiz, José Manuel (IABIMO, INTA-CONICET)
- Suarez, Carlos (Department of Veterinary Microbiology and Pathology, Washington State University)
- Wilkowsky, Silvina (IABIMO, INTA-CONICET)

The Thrombospondin-Related Anonymous Protein (TRAP) has been described as a potential vaccine candidate in several apicomplexan parasites. However, this protein and members of this family have not been characterized yet in *Babesia bigemina*, one of the most prevalent species causing bovine babesiosis.

The *Babesia bigemina* TRAP-1 (*BbiTRAP-1*) gene was identified by a bioinformatics search using the *B. bovis* TRAP-1 sequence. Members of the TRAP and TRAP-related protein family (TRP) families were identified in *Babesia* and *Theileria* through the search of the TSP-1 adhesive domain, the hallmark motif of TRAP proteins. Structural modelling and phylogenetic analysis were performed with the identified TRAP proteins. A truncated recombinant *BbiTRAP-1* and specific antisera were produced and used in Western blot analysis and indirect fluorescent antibody test (IFAT). B-cell epitopes with neutralizing activity in *BbiTRAP-1* were defined by ELISA and invasion assays.

TRAP family has 3 members in *B. bigemina* (*BbiTRAP-1-3*). All are type 1 transmembrane proteins containing the von Willebrand factor A (vWFA), thrombospondin type 1 (TSP-1) and cytoplasmic C-terminus domains along with transmembrane regions. The *BbiTRAP-1* predicted structure also contains a metal ion-dependent adhesion site (MIDAS) for interaction with the host cell. The TRP family in *Babesia* and *Theileria* species contains the canonical TSP-1 domain but lack the vWFA domain and together with TRAP define a novel gene superfamily. A variable number of tandem repeat units is present in *BbiTRAP-1* and could be used for strain genotyping. Western blot and IFAT analysis confirmed expression of *BbiTRAP-1* by blood stage parasites. Partial recognition by a panel of sera from *B. bigemina* infected cattle in ELISA using truncated *BbiTRAP-1* suggests that this protein is not an immunodominant antigen. Additionally, bovine anti-recombinant *BbiTRAP-1* antibodies were capable of neutralize merozoite invasion in vitro.

We identified the TRAP and TRP gene families in several *Babesia* and *Theileria* species and characterized *BbiTRAP-1* as a novel antigen of *B. bigemina*. The functional relevance and presence of neutralization-sensitive B-cell epitopes suggest that *BbiTRAP-1* could be included in future vaccine candidates against *B. bigemina*.

#49 - El suero de pacientes con equinococcosis quística reconoce a las histonas H4 y H2A provenientes de las células EGPE

- Maglioco, Andrea (UAI - CONICET) afmag313@yahoo.com.ar
- Agüero, Facundo (CAECIHS Universidad Abierta Interamericana, CONICET)
- Juárez Valdez, Alejandra (CAECIHS Universidad Abierta Interamericana)
- Valacco, María Pía (CEQUIBIEM, IQUIBICEN-CONICET, FCEyN-UBA)
- Moreno, Silvia (EQUIBIEM, IQUIBICEN-CONICET, FCEyN-UBA)
- Fuchs, Alicia G (CAECIHS Universidad Abierta Interamericana, INP “Dr Mario Fatała Chaben”, ANLIS-Malbrán)

La equinococcosis quística (EQ) es una zoonosis parasitaria causada por *Echinococcus granulosus* (Eg). En el hombre se desarrolla su estadio larval, manifestándose por la formación de quistes. El diagnóstico serológico es considerado de segunda línea porque es poco sensible y específico. Hemos publicado (Maglioco et al 2019) que las proteínas de una línea celular, EGPE, proveniente de protoescólices de Eg y que forman colonias quísticas en agarosa, son reconocidas por el suero de los pacientes con EQ con 100 % de sensibilidad.

El objetivo de este trabajo fue identificar cuáles proteínas son reconocidas por los anticuerpos de pacientes con EQ hepática. Fracciones proteicas (FP) obtenidas por una columna de exclusión molecular y reactivas por Western blot, provenientes de cultivo de 20 días de células EGPE y el sobrenadante (SB) de las colonias en agarosa, 5 días de cultivo, fueron eluidos en columnas de afinidad (CA), Protein G HP SpinTrap - GE Healthcare, preparadas con un *pool* de sueros de 11 pacientes con EQ hepática (Dr J. Gentile, Tandil) o con sueros de pacientes con fascioliasis o cisticercosis (control, C) (Dra E. Sánchez, Lima, Perú). Las proteínas obtenidas fueron procesadas e identificadas por espectrometría de masas en CEQUIBIEM (FCEyN, UBA). Se predijeron los epítopes B con el software *Immune Epitope Database*. Los protocolos fueron aprobados por el comité de ética de la UAI. Se identificaron las histonas H4 (W6UJY2) y H2A (W6UJM4 y W6U132) por los anticuerpos de pacientes con EQ. En FP se encontraron 2 péptidos de H4 y en SB se encontraron 3 péptidos de H4, 2 péptidos de H2A (W6UJM4) y 1 péptido de H2A (W6U132). Se predijeron determinantes antigénicos en ambas histonas. En C se halló 1 péptido de H4 que comparte *E. granulosus* con *F. hepatica*.

Las histonas participan en la interacción huésped – parásito y demostramos en este trabajo que son reconocidas por los anticuerpos de pacientes con EQ y serian probables antígenos a estudiar para diagnóstico.

BIOLOGÍA PARASITARIA

#76 - Proteínas Rab de la vía endocítica se reclutan a la vacuola parasitófora de *Trypanosoma cruzi* y contribuyen al proceso de infección en células fagocíticas no profesionales

- Salassa, Betiana Nebaí (IHEM- Conicet- UNCuyo) bnsalassa@gmail.com
- Cueto, Juan Agustin (Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo)
- Gambarte Tudela, Julian (Instituto de Bioquímica y Biotecnología, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo)
- Romano, Patricia Silvia (IHEM- Conicet- UNCuyo)

Trypanosoma cruzi es el parásito causante de la enfermedad de Chagas, una enfermedad endémica altamente diseminada en los países latinoamericanos. *T. cruzi* tiene un ciclo de vida complejo que involucra huéspedes mamíferos e insectos vectores, los cuales exhiben diferentes formas parasitarias. Los tripomastigotes son las formas infecciosas capaces de invadir varios tipos de células huésped de mamíferos. El proceso de infección por *T. cruzi* comprende inicialmente dos pasos secuenciales, la formación y la maduración de la vacuola parasitófora de *T. cruzi*.

Las Rab son proteínas GTPasas que controlan el tráfico vesicular intracelular regulando la gemación, el transporte, el acoplamiento y la unión de las vesículas. De más de 70 Rab GTPasas identificadas en células de mamíferos, solo dos de estas proteínas del hospedador, Rab5 y Rab7, se han encontrado relacionadas con la vacuola parasitófora de *T. cruzi* hasta la fecha.

En este trabajo hemos caracterizado el papel de las rutas endocítica, de reciclaje y secretora en el proceso de infección por *T. cruzi* en células CHO, mediante el estudio de las Rab más representativas de estas vías. Encontramos que Rab endocíticas se reclutan selectivamente en la vacuola de *T. cruzi*, entre ellas Rab22a, Rab5 y Rab21 inmediatamente después de la infección, seguidos por Rab7 y Rab39a en momentos posteriores. Sin embargo, ni las Rab de la vía de reciclaje ni las de la vía secretora estaban presentes en la membrana de la vacuola en los momentos estudiados. Curiosamente, la pérdida de función de las Rab endocíticas (formas mutantes dominantes negativas) disminuyeron significativamente la infección por *T. cruzi*. Estos datos destacan la contribución de estas proteínas y la ruta endosomal en el proceso de infección por *T. cruzi*.

#124 - Búsqueda in silico de partners de la proteína con bromodominio TcBDF5

- Rodríguez Araya Elvio (Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, CONICET-UNR) elvio.rodriquez4@gmail.com
- Serra, Esteban (Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, CONICET-UNR Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas)

El inicio de la transcripción de los clusters de genes de *Trypanosoma cruzi* requiere de cambios en la estructura de la cromatina que permitan el acceso a la RNAPol II. Los bromodominios reconocen lisinas acetiladas en las regiones N-terminal de histonas y forman parte de complejos que regulan la remodelación de la cromatina regulando, entre otros procesos, la transcripción.

TcBDF5 es una proteína en la cual pueden reconocerse bioinformáticamente 2 bromodominios N-terminales. Además, posee una región C-terminal con homología incierta. Utilizando diversas herramientas bioinformáticas, se logró reconocer esta región como homóloga de un dominio presente en prácticamente todos los eucariotas, el dominio MRG. Normalmente, las células eucariotas poseen 2 proteínas distintas con dominios MRG que funcionan como conectoras para formar 3 tipos de complejos: histonas acetil-transferasas (HAT), histonas deacetilasas (HDAC) e histonas metil-transferasas (HMT). Estos forman complejos mutuamente excluyentes con ambas proteínas MRG y actúan regulando la deposición/escisión de marcas epigenéticas. Posteriores análisis corroboraron la existencia de otra proteína con dominio MRG en tripanosomátidos (que llamamos TcMRG). Esta proteína, al igual que muchas MRGs de otros organismos, carece de otro dominio reconocible. También se hallaron potenciales homólogos de las proteínas que forman estos complejos, por lo que este mecanismo de regulación epigenético estaría conservado en *T. cruzi*.

Utilizando Rosetta, se construyeron modelos estructurales de ambos MRG y se realizaron ensayos de docking con homólogos potenciales de las proteínas con los que estos dominios interaccionan. Los resultados *in silico* de las energías de interacción serán validados posteriormente con experimentos *in vitro/in vivo*.

Dado que la correcta regulación de estas marcas epigenéticas es esencial para la viabilidad del parásito, TcBDF5 sería un gran candidato para el desarrollo de inhibidores de bromodominios.

#22 - Diversidad Genética de *Dioctophyma renale* en el Litoral Argentino y Sur de Brasil

- Arce, Lucas Federico (Instituto de Microbiología y Parasitología Médica)
lucasfarce.lfa@gmail.com
- Facelli Fernández, Florencia (INALI, UNL-CONICET))
- Giorello, Nahili (INIBIOLP, UNLP-CONICET))
- Butti, Marcos (Cátedra de Parasitología Comparada (FCV-UNLP))
- Maldonado, Lucas L (IMPAM, UBA-CONICET))
- Arrabal, Juan P (CeIBA, ONG Misiones))
- Natalini, María Belén (Estación Biológica De Usos Múltiples Sede Corrientes (CONICET – Nordeste))
- Kowalewski, Martín (Estación Biológica De Usos Múltiples Sede Corrientes (CONICET – Nordeste))
- Pedrassani, Daniela (Departamento de Medicina Veterinaria, (UnC, Canoinhas SC, Brasil))
- Zilli, Florencia (Instituto Nacional de Limnología (INALI, UNL-CONICET))
- Franchini, Gisela R (Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP, UNLP-CONICET))
- Beldomenico, Pablo M (Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet Litoral, UNL-CONICET))
- Kamenetzky, Laura (IMPAM, UBA-CONICET))

Dioctophyma renale es un nematodo parásito que produce infecciones debilitantes e incluso fatales en el riñón de los mamíferos (principalmente del orden Carnívora). En el litoral argentino hay numerosos reportes de este parásito en fauna doméstica y silvestre incluyendo al Aguará guazú (*Crysocyon brachyurus*) entre las especies afectadas indicado que este parásito podría ser una posible amenaza para la conservación de algunas especies en peligro de extinción. A partir del consorcio internacional Royal Society UK-CONICET Argentina para la obtención del genoma completo de *D. renale* que dirigimos, se ensambló preliminarmente el genoma mitocondrial de *D. renale* y se diseñaron marcadores moleculares que abarcan tres regiones del gen de la citocromo oxidasa I (COX1). Se amplificaron por PCR y secuenciaron 46 adultos de *D. renale* provenientes de diferentes hospedadores de fauna doméstica y silvestre de Buenos Aires, Santa Fe, Corrientes y Chaco y diversas localidades del sur de Brasil. Las secuencias obtenidas se analizaron filogenéticamente comparándolas con todas las secuencias disponibles en bases de datos. Las filogenias construidas con los tres marcadores fueron consistentes entre sí. Se observaron tres variantes genéticas locales de Sudamérica, todas ellas compartidas entre la fauna silvestre y doméstica de las localidades de Brasil y Argentina (distancia promedio 0,01), pero una gran separación con respecto a las secuencias de Asia y Norteamérica (0,12). La evidencia molecular sugiere que las poblaciones de *D. renale* estuvieron en América del Sur el tiempo suficiente para desarrollar variantes genéticas locales. Finalmente, las mismas variantes pueden infectar y transmitirse entre mamíferos domésticos y silvestres en la región estudiada. Se diseñarán nuevos marcadores moleculares basados en el genoma nuclear para profundizar en la estructuración poblacional de *D. renale* en Sudamérica y determinar las especies involucradas en su transmisión.

#106 - Análisis genómico de proteínas involucradas en el metabolismo de esfingolípidos en *Tetrahymena thermophila* e identificación de una ácido graso 2-hidroxilasa involucrada en la etapa sexual de la conjugación

- Puca, Gervasio (Instituto de Nanobiotecnología, UBA - CONICET)
gervasiopuca@gmail.com
- Cid, Nicolas (Instituto de Nanobiotecnología, UBA - CONICET)
- Nudel, Clara (Instituto de Nanobiotecnología, UBA - CONICET)
- Nusblat, Alejandro (Instituto de Nanobiotecnología, UBA - CONICET)

Los esfingolípidos son lípidos bioactivos presentes en todos los organismos eucariotas. *Tetrahymena thermophila* es un ciliado modelo en el cual, no se han identificado genes implicados en el metabolismo de esfingolípidos. Mediante análisis de similitud y ortología entre genes caracterizados en otros organismos de diferente origen taxonómico y el genoma de *T. thermophila* pudimos parcialmente reconstruir la vía metabólica putativa de esfingolípidos en *T. thermophila*. Se identificaron los genes ortólogos de 11 pasos enzimáticos involucrados en las vías de biosíntesis y degradación. No se pudieron encontrar genes involucrados con el metabolismo de glucoesfingolípidos o fosfoesfingolípidos, a pesar de que en la literatura se han descrito moléculas esfingoideas como también varias actividades enzimáticas pertenecientes a estas vías en *T. thermophila*. Estos análisis, sugieren que los ciliados podrían utilizar mecanismos tanto conservados como innovadores para la biosíntesis y degradación de esfingolípidos.

Mediante la técnica de noqueo genético, pudimos identificar el gen codificante de una ácido graso 2-hidroxilasa, involucrada en la vía biosintética. Las células noqueadas han mostrado varias deficiencias en la etapa sexual de la conjugación, como la incapacidad de formar pares de células conjugantes, proceso esencial para el desarrollo del proceso sexual. Este gen de la ácido graso 2-hidroxilasa es el primer gen de una vía metabólica de esfingolípidos en ser identificado en ciliados y posee un rol crítico en la etapa sexual de los mismos.

#62 - Caracterización fenotípica de mutantes por delección para TSSA (Trypomastigote Small Surface Antigen) de *Trypanosoma cruzi*

- Burasi, Florencia (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), UNSAM - CONICET) florenciaburasi@gmail.com
- Cámara, M. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Rodríguez, M. E. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Tekiel, V. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Buscaglia, C. A. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Balouz, V. (IIBio (UNSAM-CONICET))

TSSA es una proteína polimórfica de la superficie de *T. cruzi*, involucrada en la adhesión a células blanco previo a la internalización. Para estudiar el rol de esta molécula generamos mediante CRISPR/Cas9 parásitos de la cepa RA editados en el *locus* TSSA, compuesto por 12 copias idénticas dispuestas en tándem. Obtuvimos 3 clones con diferentes genotipos: #3 con delección parcial del *locus* TSSA, #9 y #10 con delección total del *locus* y de distintas regiones flanqueantes. Los clones #9 y #10 mostraron una infectividad menor (~50%) *in vitro* (e *in vivo* en el caso del clon #9) y una menor transmigración en un modelo de esferoides celulares. En este trabajo se evaluó si este último fenotipo está relacionado con deficiencias en la motilidad de los clones editados. Para esto, realizamos ensayos de migración en medio líquido y matrices semisólidas de colágeno tipo I. Se grabaron videos y usando un software específico se realizó el seguimiento manual de los parásitos cuadro por cuadro. En ninguna condición vimos diferencias significativas entre los clones y la cepa RA wt en los valores de velocidad obtenidos ni en el tipo de movimientos. Por esto inferimos que TSSA no cumple un rol crucial en el movimiento mecánico del tripomastigote *per se* sino que la disminución de los niveles de transmigración de los clones #9 y #10 (TSSA KO) podría estar relacionada con deficiencias en su interacción con receptores en la superficie de las células o de la matriz. Para confirmar que la menor infectividad se debía a la edición génica de TSSA, realizamos complementación funcional. Genes para distintas isoformas de TSSA con un epítipo FLAG (y resistentes a edición por Cas9) fueron sintetizados, clonados en pTEX y transfectados en parásitos mutantes y RA wt. Ensayos de Western blot e IFI permitieron verificar la correcta expresión de las TSSA ectópicas en epimastigotes de las distintas líneas, los cuales serán próximamente diferenciados *in vitro* a tripomastigotes y evaluados fenotípicamente.

#40 - Caracterización funcional de una metionina sulfóxido reductasa híbrida de *Trypanosoma cruzi*

- Gonzalez, Lihue Nadia (Instituto de Agrobiotecnología del Litoral, Laboratorio de Enzimología Molecular) nadia.lihue@gmail.com
- Birocco, Franco (Inst. de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL))
- Guerrero, Sergio (Inst. de agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL))
- Iglesias, Alberto A. (Inst. de agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL))
- Arias, Diego G. (Inst. de agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL))

La metionina es un aminoácido susceptible a oxidarse a metionina sulfóxido (MetSO). La reducción de MetSO a metionina está catalizada por la enzima metionina sulfóxido reductasa (MSR), presente en casi todos los organismos. *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, es auxótrofo en metionina. A través de un análisis de su genoma, identificamos una secuencia codificante para la metionina sulfóxido reductasa libre (fMSR), una proteína solo presente en organismos unicelulares. En *T. cruzi*, esta proteína está constituida por un dominio de tipo GAF fusionado al dominio TIP41 (homólogo a TIP41 de levadura el cual está involucrado en la regulación negativa de la vía TOR en la levadura). La secuencia codificante del dominio GAF se expresó en *Escherichia coli* y la proteína recombinante correspondiente se purificó y caracterizó funcionalmente. La proteína recombinante exhibió actividad MSR con el isómero L-Met(*R*)SO y triparredoxinas y tiorredoxina de *T. cruzi* como sustratos reductores. Por otro lado, se realizó un ensayo de complementación de levaduras utilizando una mutante $\Delta tip41$. Los resultados mostraron que *TcfMSR* (tanto el dominio TIP41 aislado como la proteína completa) podría compensar el fenotipo sensible a la rapamicina. Este resultado indica que la *TcfMSR* es activa, actuando negativamente en la vía TOR de levadura. Se realizó un ensayo de doble híbrido en levaduras con el dominio TIP41 y la proteína TAP42 (un posible interactante de TIP41 en *T. cruzi*), observándose interacción de estas proteínas. Se evaluó también el efecto de fármacos inhibidores de la vía TOR (rapamicina y AZD8055) sobre el crecimiento de epimastigotes de *T. cruzi*. Se observó que ambos compuestos generan una disminución en el crecimiento del parásito. Estos resultados sugieren que la *TcfMSR* es un posible vínculo entre el metabolismo redox y la vía TOR en *T. cruzi*.

#36 – Caracterización bioquímica y molecular de la interacción entre la aldo-ceto reductasa de *Trypanosoma cruzi* (TcAKR) y el Benznidazol

- Garavaglia, Patricia (INP "Dr. Mario Fatala Chaben-ANLIS "Dr. CARlos G. Malbran")
pato_garavaglia@hotmail.com
- Cagnoni, Alejandro (IBYME-CONICET)
- Trujillo, Pablo (IFIBA-CONICET)
- Albano, Juan (IFIBA-CONICET)
- Tasso, Laura (INP "Dr. Mario Fatala Chaben-ANLIS "Dr. CARlos G. Malbran")
- Cannata, Joaquín (IIB-INTECH-UNSAM)
- Pickholz, Monica (IFIBA-CONICET)
- Garcia, Gabriela (INP "Dr. Mario Fatala Chaben-ANLIS "Dr. CARlos G. Malbran")

El Benznidazol (Bz) es una droga utilizada para el tratamiento de la infección por *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas. Publicaciones recientes sugieren que la aldo-ceto reductasa de *T. cruzi* (TcAKR) participa en el mecanismo de resistencia al Bz. La TcAKR tiene actividad reductasa NADPH dependiente con sustratos AKR típicos, como 4-nitrobenzaldehído (4-NBA), y *o*-naftoquinonas, como 1,2-naftoquinona (1,2-NQ), con cinéticas tipo Michaelis-Menten y sigmoidea, respectivamente. Además, es capaz de reducir al Bz con una baja actividad específica (90 nmoles NADPH/min/mg proteína). A fin de comprender la participación de la TcAKR en los mecanismos de resistencia al Bz se propuso profundizar en el estudio de la interacción TcAKR-Bz. Mediante titulaciones de calorimetría isotérmica (ITC) se confirmó que la TcAKR y el Bz interaccionan con afinidad media ($K_d = 1,547 \mu\text{M}$) y en una relación estequiométrica 1:1. Por otro lado, utilizando condiciones en las cuales la actividad Bz reductasa es indetectable, se evaluó el efecto del Bz sobre las distintas actividades enzimáticas de la TcAKR. Se observó un efecto inhibitorio del Bz del tipo *acompetitivo* sobre la reducción del 4-NBA y un efecto *modulador alostérico negativo*, sobre la reducción de la 1,2-NQ. Ambas cinéticas conservaron su comportamiento con K_i de $0,113 \pm 0,02 \text{ mM}$ y $0,180 \pm 0,008 \text{ mM}$, respectivamente. Finalmente, a partir del modelado por homología de la secuencia aminoácida de la TcAKR, se realizaron simulaciones computacionales sobre TcAKR monomérica unida al Bz en distintas relaciones molares (entre 1:10 y 1:100). Se obtuvo una buena estabilidad de los sistemas con y sin Bz, así como una gran afinidad de la droga por la proteína en regiones específicas mayormente compuestas por alfa hélices. Estos estudios permitirán ahondar en el conocimiento de los mecanismos de acción del Bz, lo cual podría favorecer el desarrollo de nuevas estrategias para combatir a *T. cruzi*.

#73 - Role of clathrin-mediated endocytosis in *Giardia lamblia* encystation

- Feliziani, Constanza (INIMEC-CONICET-UNC) cfeliziani@immf.uncor.edu
- Rivero, Maria Romina (IDAS-CONICET)
- Ropolo, Andrea Silvana (INIMEC-CONICET-UNC)
- Touz, Maria Carolina (INIMEC-CONICET-UNC)

One way that cells have to exchange material and information with their environment is through cell surface receptors involved in processes that range from nutrient uptake to signaling responses. Consequently, endocytosis constitutes a powerful mechanism to regulate both events. During growth, the protozoa parasite *G. lamblia* acquires cholesterol from the environment through receptor-mediated endocytosis of LDL lipoprotein and chylomicrons. However, during encystation, there is a decrease in available cholesterol that triggers the differentiation from trophozoites to cysts. In this work, we reveal the involvement of the endocytic machinery in the cell differentiation process of *G. lamblia* to its resistant form, the cyst. By using wild-type as well as stable negative or knock-down strains for the clathrin adaptors GIAP2 (for *G. lamblia* Adaptor Protein 2) and GIENThp (for *G. lamblia* ENTH protein), immunofluorescence assays, and confocal microscopy, we found that GIAP2 colocalize with ESV (for Encystation Specific vesicles) while the GIENThp seems not to be colocalized with those vesicles. Moreover, GIAP2 knock-down trophozoites were unable to complete the differentiation process, while GIENThp knock-down trophozoites accomplished the encystation similarly to wild-type cells. When the number of viable cysts was determined by counting with a haemocytometer, we observed a decrease in cyst production only in GIAP2 knock-down mutants. Also, different expression patterns of GIAP2 and GIENThp were found during encystation when their mRNAs were analyzed by microarrays. Our results support the hypothesis that it is not the endocytosis mechanism per se that is involved in the generation of cysts but rather the role of GIAP2 in the transport of cyst wall proteins to the surface, for cyst development. However, the restricted localization of GIAP2 may also be important in endocytosis of cyst wall molecules during post-release membrane recycling.

#82 – Participación de histona-metil transferasas en el proceso de enquistamiento del parásito

Giardia lamblia

- Diaz Perez, Luciano (IMMF) ldiazperez@immf.uncor.edu
- Salusso, Agostina (Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra)
- Touz, Maria Carolina (Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra)
- Ropolo, Andrea (Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra)

Giardia lamblia es un parásito unicelular que tapiza la superficie del epitelio del intestino delgado de animales vertebrados, incluido el ser humano y que causa una enfermedad conocida como giardiasis. Su ciclo de vida atraviesa por dos estadios: el trofozoíto, que coloniza el intestino y es responsable del cuadro clínico de la enfermedad, y el quiste, que constituye la forma de resistencia y se elimina a través de las heces del hospedador. Son la carencia de colesterol y el leve aumento del pH en las porciones finales del intestino delgado y primeros segmentos del intestino grueso, los estímulos necesarios para que el estadio de trofozoíto dispare la respuesta que induce su enquistamiento. La regulación epigénética del proceso de enquistamiento, a través de las modificaciones post-traduccionales de histonas ha cobrado relevancia en los últimos años. En esta dirección, nuestro grupo de trabajo se ha enfocado en el estudio de Histona Metil-Transferasas (HMTs) con dominio SET durante el proceso de enquistamiento. Hemos demostrado previamente que la enzima Histona-metil transferasa 1 está involucrada en la regulación positiva de los genes específicos del enquistamiento durante los primeros estadios del proceso. Recientemente realizando tanto la sobre-expresión como el silenciamiento de GIHMT2 observamos que esta enzima estaría influenciando de manera positiva el proceso de enquistamiento, sin embargo, muy posiblemente no esté actuando como una enzima modificadora de histonas, ya que en ningún estadio hemos observado una localización nuclear de GIHMT2. Con respecto a otra enzima, GSET-2, observamos que es una proteína de localización exclusivamente nuclear y estaría regulando de manera negativa el proceso de enquistamiento. Esto abre nuevas incógnitas sobre el modo de regulación de expresión génica durante el proceso de diferenciación de este protista flagelado, pero sobre todo acerca de nuevas posibilidades que pueden ser aplicadas en el campo terapéutico.

71- Differences in the proteomic content of extracellular vesicles of two strains with different pathogenicity of *Giardia lamblia*

- Moyano, Sofia (Instituto Ferreyra) smoyano@immf.uncor.edu
- Musso, Juliana (Instituto Ferreyra)
- Lalle, Marco (Superiore di Sanità, Roma, Italia)
- Touz, Maria Carolina (Instituto Ferreyra)

Extracellular vesicles (EVs) participate in intercellular communication by selectively transferring nucleic acids, lipids, and proteins. The EVs have been isolated and characterized in different parasites and have special relevance since they are involved in pathogenesis, adaptation to new environments, and in communication. *Giardia lamblia* is the causal agent of a disease known as giardiasis, which is more prevalent in developing countries. Humans can be infected only by parasites belonging to assemblages A (isolate WB) and B (isolate GS), with differences in infectivity and pathogenesis between the two. Considering that the EVs have the ability to release virulence factors, we studied whether a disparity in the content of proteins present between both assemblages could also be a cause of the difference in infectivity and pathogenesis in them. In this work, *G. lamblia* vesicles were isolated by differential ultracentrifugations. The vesicles obtained were morphologically characterized by electron microscopy and the proteins analyzed using high-resolution mass spectrometry. In both assemblages, vesicles of different sizes were observed and the proteome showed the presence of conserved proteins and specific proteins of the parasite. Furthermore, proteins associated exclusively with exosomes (endosomal origin) and MVs (plasma membrane origin) were identified. Proteins that act as virulence factors and specific assembly proteins were also present. Our results indicate that assemblages A and B of *G. lamblia* secrete vesicles with microvesicle and exosomes characteristics but also with particular proteins that could explain the differences in pathogenesis that exist between both isolates.

#60 - Caracterización funcional del motivo CEST de tripanosomátidos

- Centeno Camean, Camila (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio)) [cccenteno@iib.unsam.edu.ar](mailto:ccenteno@iib.unsam.edu.ar)
- Takada, R. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Durante, I. M. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Briones, G. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Buscaglia, C. A. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Cámara, M. (IIBio (UNSAM-CONICET))

A partir de la proteína TCLP1 de *Trypanosoma cruzi*, recientemente identificamos una familia de proteínas de tripanosomátidos que presentan un motivo 'CEST', con homología estructural a chaperonas involucradas en la secreción de efectores en bacterias enteropatógenas. Dada la existencia de estructuras cristalinas del complejo chaperona-efector (SicP-SptP) de *Salmonella*, seleccionamos este modelo biológico para caracterizar los motivos CEST. La expresión ectópica de estos motivos restituyó la secreción de SptP *in vitro* y el desarmado de rearrreglos del citoesqueleto en células blanco por parte de una cepa *S. Typhimurium* Δ sicP. Un motivo CEST divergente de *Crithidia fasciculata* (Cf7100), sin embargo, fue incapaz de complementar estos fenotipos. Aquí mostramos que a diferencia de los demás CEST evaluados, el motivo de Cf7100 no interactúa directamente con SptP *in vitro*. Análisis *in silico* del modelado de Cf7100 CEST revela baja superposición estructural con SicP en distintas regiones de la molécula. En particular, Cf7100 CEST presenta una distinta orientación en la cadena lateral de una triada de residuos hidrofóbicos presentes en el "helix-binding-groove", surco proteico que en SicP es fundamental para el anclaje de SptP. Para evaluar el impacto de esta alteración, generamos un mutante de TCLP1 CEST, reemplazando estos 3 residuos por los correspondientes en el motivo Cf7100 CEST. El motivo mutante no mostró interacción *in vitro* con SptP y tampoco fue capaz de reconstituir la secreción de SptP en ensayos de complementación en bacterias *S. Typhimurium* Δ sicP. En conjunto, estos resultados refuerzan la importancia de la superficie hidrofóbica del "helix-binding-groove" para la función chaperona de las CesT bacterianas y sustentan la hipótesis de que la conservación de la estructura y por lo tanto el modo de interacción con sustratos (todavía no identificados) y la actividad tipo chaperona de ciertos motivos CEST de tripanosomátidos se encuentra bajo presión selectiva.

#51 – Primera evidencia de una proteína de tipo glutarredoxina en *Entamoeba histolytica*

- Birocco, Franco (IAL - CONICET) fbirocco@hotmail.com
- González, Lihue N. (IAL - CONICET)
- Guerrero, Sergio A. (IAL - CONICET)
- Iglesias, Alberto A. (IAL - CONICET)
- Arias, Diego G. (IAL - CONICET)

El parásito intestinal *Entamoeba histolytica* es el agente causal de la amebiasis. Este protozoo vive y se multiplica en el interior del intestino humano. Sin embargo, durante la invasión a tejidos, *E. histolytica* se encuentra expuesta a cantidades elevadas de especies reactivas exógenas. Hasta el momento, no se ha detectado la síntesis de glutatión ni de enzimas asociadas a su metabolismo en el parásito. Aquí presentamos la caracterización funcional de una proteína de tipo glutarredoxina monotiólica de *E. histolytica* (EhGrx1). Ensayos bioquímicos mostraron que EhGrx1 fue capaz de catalizar la reducción in vitro de disulfuros de baja masa molecular. La proteína recombinante obtenida en *Escherichia coli* presentó una estructura apo-monomérica; sin embargo, una forma holo-proteica se obtuvo mediante complementación del medio de cultivo con citrato férrico y cisteína. La habilidad de unir centros ferrosulfurados (ISCs) fue evaluada por espectroscopía UV-Vis y cromatografía de filtración por geles, mostrando que EhGrx1 podría unir ISC. La holo-EhGrx1 no exhibió actividad, sugiriendo que la Cys catalítica estaría involucrada en la unión de ISC. Evaluamos por western blot y microscopía confocal la abundancia relativa y localización de EhGrx1, respectivamente, en células de *E. histolytica* expuestas a agentes oxidantes exógenos y a metronidazol. Los resultados mostraron un incremento de los niveles de proteína respecto a las células no tratadas. Además, llevamos a cabo bioensayos de toxicidad utilizando células de *E. coli* recombinante. Los datos mostraron diferencias significativas en los IC 50 para H₂O₂ comparando las células no expresantes respecto de las expresantes de EhGrx1. Estos resultados sugieren que EhGrx1 podría estar involucrada en la protección frente a estrés oxidativo y nitrosativo en este parásito. Para nuestro entender y saber, esta es la primera caracterización de este tipo de proteínas en *E. histolytica*.

#53 - Role of the TcDOT1a and TcDOT1b isoforms in H3K76 differential methylation and their impact in *Trypanosoma cruzi* life cycle

- Balestrasse, Malena (INGEBI) male.balestrasse@gmail.com
- Massimino Stepñicka, Milena (INGEBI)
- Alonso, Guillermo Daniel (INGEBI)
- Beati, Maria Paula (INGEBI)
- Ocampo, Josefina (INGEBI)

Trypanosoma cruzi, the etiologic agent of Chagas Disease, affects a large number of the population in Latin America. It has a complex life cycle alternating between a mammalian host and the vector insect, *Triatoma infestans*. This cycle consists of three well-defined stages: amastigotes, epimastigotes and trypomastigotes. As the parasite faces different environments, it requires changes in gene expression in order to survive. Hence, gene expression regulation might be a key aspect to understand adaptation. Despite Trypanosomes gene expression is mainly regulated post transcriptionally, there are evidence that chromatin state influence it. In *T. cruzi*, there are two Dot1 methyltransferases homologues, called Dot1a and Dot1b, involved in the sequential mono, di and tri methylation of lysine 76 of histone H3 (H3K76me). Additionally, recent studies have shown that Dot1a deletion is not viable while Dot1b null mutant has aberrant morphology and decreased growth rate.

In this project, we investigated the relevance of TcDot1a and TcDot1b during cell cycle and the metacyclogenesis process. Therefore, to analyze the isoforms subcelular location and their effects on cell cycle progression and differentiation, we have cloned the TcDot1 isoforms in a pRibotex vector with an N-terminal HA-tag and transfected epimastigotes of CL Brener strain. Nevertheless, the overexpression was toxic for the cell. Therefore, we decided to switch to an inducible vector.

In order to elucidate the epigenetic implications of H3K76 differential methylation in the different stages of the life cycle of *T. cruzi*, we propose to map H3K76 mono, di and tri-methylation genome wide by MNase-ChIP-seq technique followed by paired-end sequencing.

Overall, our data will be useful to further understand the role of the Dot1 isoforms and the epigenetic mechanism mediated by H3K76 in this unique parasite.

#72 - TcAMPK: a cellular energy homeostasis hub regulator with unique characteristics in *Trypanosoma cruzi*

- Sternlieb, Tamara (INGEBI - CONICET) tamara.sternlieb@gmail.com
- Schoijet, Alejandra C. (INGEBI - CONICET)
- Genta, Patricio D. (INGEBI - CONICET)
- Alonso, Guillermo D. (INGEBI - CONICET)

The AMP-activated protein kinase (AMPK) is a heterotrimeric enzyme involved in maintaining energy homeostasis in response to different stresses in many organisms. During the transition between the mammalian host and the insect vector, *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease, faces different types of environmental fluctuations, all of which prompt the parasite to remodel its metabolism to adapt, survive and differentiate into the next stages of its life cycle. Recently, it was shown that *Trypanosoma brucei* AMPK is involved in the differentiation from the bloodstream slender to stumpy stage and in surface protein expression changes in response to nutritional stress. This underscores the relevance of AMPK for parasite life cycle progression.

We identified four genes for the AMPK subunits of *T. cruzi* ($\alpha 1$ and $\alpha 2$ catalytic subunits, β and γ regulatory subunits). The β and γ subunits are largely conserved in their domain structure relative to the mammalian orthologs. However, the alpha subunits show significant sequence, structure and evolutionary differences from the human counterparts. The presence of these subunits in epimastigotes was confirmed by several techniques. TcAMPK $\alpha 1$ over-expressing epimastigotes showed a lower growth rate in basal culture conditions compared to the control, while $\alpha 2$ over-expression had the opposite effect. We found there is upregulation of AMPK activity under starvation, which is prevented if glucose is present in the culture medium. Each of these subunits could complement the 'glucose dependent' phenotype of *S. cerevisiae* conditional mutants lacking the respective subunit of the AMPK ortholog SNF1. Starvation and Monodansylcadaverine incorporation assays with AMPK α over-expressing parasites also showed a possible role of AMPK in autophagy. Finally, we explore the pathways in which TcAMPK may be involved using *in silico* analysis of putative substrates. Our results open the door to the study of the AMPK signaling pathway in *Trypanosoma cruzi*.

#54 – Búsqueda computacional de inhibidores de la nucleósido difosfato quinasa 1 de *Trypanosoma cruzi*

- Galceran, Facundo (IDIM-UBA-CONICET) facugalce@gmail.com
- Sayé, Melisa (IDIM-UBA-CONICET)
- Reigada, Chantal (IDIM-UBA-CONICET)
- Pereira, Claudio (IDIM-UBA-CONICET)
- Miranda, Mariana (IDIM-UBA-CONICET)

Las nucleósido difosfato quinosas (NDPKs) son enzimas que participan en la homeostasis intracelular de nucleótidos; se consideran multifuncionales ya que están involucradas en numerosos procesos claves para la supervivencia de las células. La TcNDPK1 es una isoforma del parásito *Trypanosoma cruzi* que es secretada, participa en mecanismos de resistencia a drogas tripanocidas, posee actividad nucleasa, se une ácidos nucleicos e interviene en respuestas frente al daño al ADN. En los tripanosomatidos las NDPKs juegan un papel adicional en el salvataje y reciclado de nucleobases dado que no pueden sintetizar purinas de novo. Esta diferencia respecto de los hospedadores mamíferos hace que las NDPKs sean atractivos blancos moleculares para la búsqueda y diseño de fármacos contra dichos organismos. Además, no existen inhibidores potentes y específicos de estas enzimas descriptas hasta el momento en ningún organismo.

En el presente trabajo iniciamos una búsqueda de posibles inhibidores de la TcNDPK1 mediante estrategias computacionales de reposicionamiento de drogas basadas tanto en el ligando como en el receptor. Para ello, partimos de la estructura tridimensional de la TcNDPK1, considerando especialmente aquellos residuos diferenciales entre ésta y la enzima humana, de inhibidores conocidos obtenidos de la bibliografía y de bases de datos conteniendo 12,000 compuestos aprobados para su uso en humanos. Mediante este abordaje seleccionamos 40 compuestos en total, 24 basados en el ligando y 17 basados en el receptor, de los cuales la apormorfina, un derivado de la morfina usado en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, fue el mejor candidato seleccionado por ambas estrategias. Considerando que estas drogas son de fácil disponibilidad, el próximo paso será su evaluación *in vitro* como inhibidores de la TcNDPK1 y posteriormente como agentes tripanocidas.

#57 - Análisis de la capacidad de unión a AMPc en potenciales efectores del nucleótido cíclico de *Trypanosoma cruzi*

- Di Mario, Guillermo (IQUIBICEN (CONICET)) guilledim23@gmail.com
- Escalona, Jose Leonardo (IQUIBICEN (CONICET))
- Ferri, Gabriel (IQUIBICEN (CONICET))
- Edreira, Martín Miguel (IQUIBICEN (CONICET))

Se ha demostrado que la señalización dependiente de adenosin monofosfato cíclico (AMPc) resulta esencial en el ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*. A pesar de ello, poco se conoce de las vías de transducción de señales dependientes de dicho nucleótido en el parásito. Reportes previos analizando el genoma de *T. cruzi*, muestran la aparición de diversos marcos de lectura conteniendo dominios de unión a nucleótido cíclico (CBD), entre ellos la Proteína quinasa A (PKA). También se ha reportado, a diferencia de su contraparte humana, que la PKA tripanosomática no sería capaz de unir AMPc. Con el fin de aportar conocimiento de las vías dependientes de AMPc en *T. cruzi*, hemos clonado y caracterizado bioquímicamente a algunas de las proteínas CON CBD que posee el parásito. Los CBD de seis candidatos, TcCLB.418221.20, TcCLB.504153.20, TcCLB.504449.30, TcCLB.508523.80, TcCLB.510691.30 y TcCLB.508273.30 fueron elegidos para elaborar los modelos estructurales y el *docking in silico* con AMPc. Con el fin de evaluar su afinidad por el nucleótido cíclico, los candidatos fueron expresados en *E.coli* como proteínas de fusión a una etiqueta de histidinas o GST, y se realizaron ensayos de precipitación diferencial empleando una resina de agarosa-AMPc. Por otra parte, las proteínas purificadas se usaron ensayos de interacción utilizando lisados de tripomastigotes obtenidos a partir de cultivos de células Vero infectadas. Las proteínas eluidas fueron luego analizadas por espectrometría de masa, obteniéndose potenciales interactores de dichos candidatos, que serán estudiados mas adelante.

#75 - Predicción de genes blanco de microRNAs en *Mesocestoides vogae* (syn. *M. corti*)

- Grecco, Andrés (IMPAM) andresgrecco1@gmail.com
- Macchiaroli, Natalia (IMPAM)
- Rosenzvit, Mara (IMPAM)

Mesocestoides vogae (syn. *M. corti*) es un parásito helminto validado como modelo de laboratorio para el estudio de la clase Cestoda. Es fácilmente cultivado, considerado no infectante en humanos y dada su capacidad notable de reproducción brinda disponibilidad de material biológico constante.

Los microRNAs (miRNAs) son pequeños ARNs no codificantes. Su rol es fundamental en la regulación de la expresión génica a nivel post-transcripcional reconociendo sitios en el 3'UTR de un mRNA blanco e inhibiendo su expresión. Previamente, se identificaron 45 miRNAs en *M. vogae*. mco-miR-10-5p, mco-let-7-5p, mco-miR-71-5p y mco-bantam-3p fueron los más expresados en larvas y adultos. Dado que se desconoce cuáles son los genes blanco de estos miRNAs, el objetivo de este estudio fue predecirlos mediante herramientas bioinformáticas.

Utilizando las secuencias de 3'UTRs y de los miRNAs de *M. vogae* se realizó la predicción bioinformática de genes blanco con el programa miRanda. Los 3'UTRs se obtuvieron por extracción de los 300 nucleótidos río abajo del codón stop de cada gen codificante. De 14.704 genes totales se observó que 1.314 serían regulados por miRNAs (8,94%). Se identificaron 1.510 potenciales sitios blanco distribuidos en 1.314 3'UTRs. Se observó que 1.140 3'UTRs (86,75%) tienen un sitio blanco, mientras que 174 (13,25%) presentan más de uno, teniendo mayor probabilidad de ser verdaderos genes blanco. Entre los 3' UTRs con múltiples sitios blanco, 155 tienen 2 sitios blanco, 16 tienen 3 sitios y 3 tienen 4 sitios. Entre los miRNAs más expresados, mco-miR-71 presenta el mayor número de probables sitios blanco (56), sugiriendo que puede regular múltiples procesos celulares.

El análisis funcional de genes blanco brindará información valiosa para el estudio de aspectos biológicos parasitarios. Los miRNAs involucrados en funciones esenciales sin un ortólogo en el hospedero, podrían ser considerados blancos terapéuticos selectivos para enfermedades desatendidas causadas por cestodes.

#27 - Extracellular RNA profile of *Echinococcus multilocularis* metacestodes with different tegument integrity

- Ancarola, Maria Eugenia (IMPaM, UBA-CONICET) meancarola@gmail.com
- Lichtenstein, Gabriel (IMPaM, UBA-CONICET)
- Herbig, Johannes (Department of Functional Materials in Medicine and Dentistry and Bavarian Polymer Institute)
- Holroyd, Nancy (Wellcome Sanger Institute)
- Berriman, Matthew (Wellcome Sanger Institute)
- Albrecht, Krystyna (Department of Functional Materials in Medicine and Dentistry and Bavarian Polymer Institute)
- Marcilla, Antonio (Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia)
- Rosenzvit, Mara (IMPaM, UBA-CONICET))
- Kamenetzky, Laura (IMPaM, UBA-CONICET))
- Brehm, Klaus (Institute for Hygiene and Microbiology)
- Cucher, Marcela (IMPaM, UBA-CONICET))

The cestode parasite *Echinococcus multilocularis* is the causative agent of alveolar echinococcosis, characterized by growth of the metacestode stage in host liver, forming a heterogeneous multivesicular mass of peripheral proliferative tissue with central necrotic regions. The metacestode is a fluid-filled vesicle with an outer acellular laminated layer and an inner cellular germinal layer. This disease lacks biomarkers for early and/or follow-up diagnosis and thus detection of parasite extracellular RNA (ex-RNA) could be a potential novel diagnostic tool. Ex-RNA can be secreted in extracellular vesicles (EV), associated to lipoproteins or in ribonucleoprotein complexes. We have previously reported that two model cestode species secrete ex-RNA in EV and that *E. multilocularis* produce EV that are retained by the laminated layer, hindering their release to the extra-parasite milieu.

In this work, we have identified the ex-RNA profile secreted by *E. multilocularis* metacestodes to the extra- and intra-parasite milieus in cultures classified as active or transitional according to tegument integrity.

For this, we analysed active (>95% vital) and transitional (70-85% vital) metacestode cultures and by differential centrifugation we isolated EV-enriched (P100) and EV-depleted (S100) fractions of culture medium and metacestode fluid. Then, by nanoparticle tracking analysis we observed a significantly higher amount of EV in transitional cultures in both the extra- and intra-parasite P100 fractions. Then, we identified the ex-RNA profile by RNA sequencing and observed small RNAs <200 nt in both types of cultures. The ex-RNAs mainly corresponded to microRNAs and fragments derived from tRNAs and rRNAs, with microRNAs as the most abundant biotype in the extra-parasite S100 fraction.

Our results show that *E. multilocularis* employs a non-vesicular mechanism for RNA secretion with a polarized profile releasing mainly microRNAs towards the extra-parasite milieu.

#90 - Optimization of the *in vitro* culture of *Taenia crassiceps*: cysticerci density and culture media composition effects on parasite growth and survival

- García, Lucía* (IMPAM, UBA-CONICET) lucicgarcia@hotmail.com
- Pérez, Matías Gastón* (Instituto de investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET)
- Ancarola, María Eugenia (Instituto de investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET)
- Rosenzvit, Mara Cecilia (Instituto de investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET)
- Cucher, Marcela (Instituto de investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET)

* Autoría compartida

The zoonoses produced by cestode parasites are associated with poverty and deficient hygiene practices, particularly in livestock-raising communities. They cause debilitating chronic diseases that affect humans, domestic and wild mammals worldwide. In particular, cysticercosis, caused by the metacestode stage (cysticercus) of *Taenia solium* is among the 17 most severe neglected tropical diseases prioritized by the WHO. The most severe manifestation of the disease, called neurocysticercosis, is produced when cysticerci establish in the nervous system. To better understand the factors involved in the survival and development of this parasite, we employed *Taenia crassiceps* cysticerci, an experimental model for cysticercosis study. Our aim was to identify the optimal *in vitro* culture conditions for the growth and asexual multiplication of *T. crassiceps* cysticerci.

For this, we incubated cysticerci in three different media with antibiotics: DMEM (A), DMEM+10% FBS (B) and DMEM+10% FBS and conditioned by a hepatoma cell line (C). Also, we analysed the effect of parasite density by incubating 1 (1C) and 10 (10C) cysticerci per well. Number of buddings and parasite diameter were measured. Vitality was determined by trypan blue staining and morphology analysis.

In 10C cultures all media produced a significant increase ($P < 0.001$) in cysticercus diameter from day 5 while in 1C cultures there was a tendency to decrease in medium A and a significant increase ($P < 0.05$) in diameter from day 10 in media B and C. In 1C and 10C, the highest increase in budding number was obtained with medium C (~ 7-fold and 4.5-fold, respectively). Finally, in 1C cultures vitality dropped to $< 20\%$ in medium A while in 10C cultures it remained $> 80\%$ in all media.

These results show that both parasite density and culture medium influence the growth, asexual multiplication and survival of *T. crassiceps* *in vitro* and set the basis for the long-term *in vitro* culture of this *T. solium* model.

#43 - Caracterización genómica y estructural de las proteínas ToIT de *Trypanosoma cruzi*

- Lobo, Mabel Maite (IIBIO) maitemlobo@hotmail.com
- Balouz, Virginia (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Cámara, María de los Milagros (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Berná, Luisa (Institut Pasteur de Montevideo)
- Robello, Carlos (Institut Pasteur de Montevideo)
- Buscaglia, Carlos Andrés (IIBio (UNSAM-CONICET))

ToIT fue caracterizado como un antígeno flagelar de tripomastigotes de *T. cruzi*, codificado por 3 genes casi idénticos, lo que no correlacionaba con la diversidad revelada en estudios proteómicos posteriores. Recientemente obtuvimos el genoma de alta calidad de secuencia y ensamblado de la cepa RA. Este genoma, junto a otros pertenecientes a distintas cepas y kinetoplastidos relacionados disponibles en bases de datos, fue aquí analizado con el objetivo de profundizar en la caracterización genómica de *ToIT*. Esto reveló una gran complejidad genética (~20 genes distribuidos en 3 *loci*/cepa), y nos permitió delinear 3 grupos robustos de genes llamados ToITA, B y C. Los 3 grupos presentan similar número de copias, grado de identidad de secuencias y disposición muy conservada en todas las cepas analizadas. Análisis de expresión, localización y perfil antigénico de los productos ToIT soportan la división propuesta y sugieren una correlación funcional. Predicciones *in silico* indican que todas las proteínas ToIT poseen un péptido señal clivable en el extremo N-t seguido por una región madura con algunos motivos comunes: sitios aceptores de glicosilación, un motivo colicin-like y 2 residuos Cys posicionalmente conservados. Para la mayoría de ellos, además, se predice una señal de anclaje por GPI en su extremo C-t. La mayoría de estas predicciones fueron confirmadas mediante técnicas bioquímicas. Para analizar la importancia de las Cys conservadas, se generaron moléculas simples y dobles mutantes y se realizaron ensayos *in vivo* e *in vitro*, que sugieren un rol de estos residuos en el ensamblado de oligómeros de ToIT en la superficie de tripomastigotes. Por último, existen excepciones a la disposición estructural descrita: un miembro ToITB carece de la señal de anclaje por GPI. Esto resulta de sumo interés ya que se encuentra conservado en todas las cepas analizadas y sería una herramienta apropiada para el estudio del tráfico intracelular de proteínas en *T. cruzi*.

#86 - Inferring the function of *T. brucei* TbRRM1 via a model of its 3D structure

- Benacerraf, Ana Laura (NYU Langone Health, New York University, USA.)
anabenacerraf@gmail.com
- Níttolo, Analía Gabriela (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBio).
Universidad Nacional de San Martín.)
- Sánchez, Daniel Oscar (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBio).
Universidad Nacional de San Martín.)
- Cardozo, Timothy (NYU Langone Health, New York University, USA)
- Levy, Gabriela Vanesa (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBio).
Universidad Nacional de San Martín.)

Previously, we have shown that TbRRM1 is an essential protein in procyclic (PCF) and bloodstream form stages of *T. brucei*. We have also observed in PCF that its silencing by RNAi produced an increase in heterochromatin content and affected transcription of RNA Pol II genes suggesting that it would have a transcriptional role. Since TbRRM1 is absent in mammals and essential for parasite survival, but the crystallographic structure of TbRRM1 is not available, we built a 3D model of the RNA Recognition Motif (RRM), which is potentially a structure capable of being inhibited by drugs. The human UP1 protein was used as a template due to its significant sequence similarity to the *T. brucei* RRM. Models were built for each RRM, using the Full Model Builder tool in ICM Pro (La Jolla, CA, USA), which optimizes alignment between the UP1 structure and the RRM to preserve secondary structure. Electrostatic surfaces of RRMs were constructed to assess the charged RNA binding surface and identify possible ligand binding pockets. Surprisingly, the first RRM showed a negative overall charge, not expected for an RRM, while the second and third motifs showed positive surfaces around the binding region. This result indicates that the first RRM would have an alternative (non-canonical) role, and the binding of TbRRM1 protein to RNA occurs in the second and/or third RRM. Preliminary experimental evidence from the overexpression of a truncated version of TbRRM1 protein lacking the first RRM showed that parasite growth is partially affected after 72 hs of TET addition in contrast to the deleterious effects seen after the wild type TbRRM1 overexpression. These findings provide new perspectives on the biological role of TbRRM1 and contribute to understanding its role in the biology of the parasite.

#108 - *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes migrate across mammalian 3D-spheroids by a paracellular route in a protease-dependent manner

- Rodriguez, Matias Exequiel (Instituto de Investigaciones Biotecnologicas IIBio-CONICET-UNSAM) mrodriguez@iibintech.com.ar
- Rizzi, Mariana (Instituto de Investigaciones Biotecnologicas IIBio-CONICET-UNSAM)
- Caeiro, Lucas D. (Instituto de Investigaciones Biotecnologicas IIBio-CONICET-UNSAM)
- Masip, Yamil E (Instituto de Investigaciones Biotecnologicas IIBio-CONICET-UNSAM)
- Tekiel, Valeria (Instituto de Investigaciones Biotecnologicas IIBio-CONICET-UNSAM)

The mechanisms associated to dissemination and tissue colonization in *T. cruzi* infection are largely speculative. Transmigration is the capacity of traverse biological barriers enabling pathogens to spread deeper into tissues. The role of transmigration in the biology of *T. cruzi* is still unknown. This is probably because the extremely simplicity of monolayer cultures to reproduce a tissue-mimicking environment, as well as the extremely complexity of animal models. Three-D cultures could be an excellent alternative because they reproduce the microarchitecture of tissues, providing an environment similar to the encountered during natural infections. In this work, we used 3D-spheroids of Hela-RFP cells to analyze the transmigration ability of *T. cruzi* trypomastigotes (tryp) of CL Brener (highly virulent) and SylvioX10 (low virulent) strains. In previous studies we determined that CL Brener tryp transmigrate and penetrate deeply inside spheroids, while most SylvioX10 parasites remain on the superficial layers. CL Brener tryp were usually found in between cell-cell contact sites, suggesting that they are using a paracellular migration pathway. Accordingly, disruption of cell-cell contacts (tight and adherent junctions) increased tryp transmigration and invasion. On the other hand, protease inhibitors strongly blocked the transmigration process of CL Brener tryp. Finally, comparative surface proteomes of tryp from CL Brener and SylvioX10 revealed more than 200 proteins exclusively expressed on the membrane of migrant parasites. Among them, we highlight extracellular matrix (ECM) binding proteins (gp85, CRT), proteases (gp63) and flagellar motility-related proteins (FM7, RSP11). Altogether the results indicate that transmigration of *T. cruzi* trypomastigotes is a multistep process, which possibly involve (1) the disruption of cell-cell junctions; (2) the degradation of ECM; (3) the interaction with components of ECM and (4) the motility of parasites.

#107 - Comparative analyses of trans-sialidases from African and American trypanosomes

- Pascuale, Carla (IIBIO) carlapascuale@gmail.com
- Saborit, Juan (IIBIO CONICET UNSAM)
- Waespy, Mario (Centre for Biomolecular Interactions Bremen, Faculty for Biology and Chemistry, University Bremen)
- Kelm, Sorge (Centre for Biomolecular Interactions Bremen, Faculty for Biology and Chemistry, University Bremen)
- Campetella, Oscar (IIBIO CONICET UNSAM)
- Leguizamon, M. Susana (IIBIO CONICET UNSAM)

African and American trypanosomes are unable to synthesize sialic acids (SA). They acquire the sugar from hosts glycoconjugates by transferring it to their acceptor molecules by the trans-sialidases (TS), enzymes known to be virulence factors. At variance with *Trypanosoma cruzi* which express one TS (TScruzi), *T. congolense* express four TS (TScon) in the trypomastigote stage. We conducted a comparative analysis of some of these enzymes, using recombinant TScon 1-3 and TScruzi. We evaluated: 1- their enzymatic activity: testing two sialyl donors, 3'SL [Neu5Ac- α (2,3)-lactose] and azidosialyl- α (2,3)galactose- β O-Met, and as acceptor [14 C]- lactose. We found that TScruzi as well as TScon1a, TScon1b y TScon2 were able to transfer SA from 3'SL donor to the acceptor displaying similar enzymatic properties, while TScon3 was inactive with this substrate. However, TScon3 transferred the SA azido modified (from azidosialyl- α (2,3)galactose- β O-Met) similarly as TScruzi does, while TScon1 and 2 were inactive. 2- their stability in mice bloodstream: TScon1a and TScon2 enzymes were intravenously (iv) administered (5 μ g) and their activity were analysed in blood samples at 0,5- and 15-min post-administration (pa). TScon1a and TScon2 activities drop and remain detectable only for 15 min. TScruzi remained in circulation during days. The presence of circulating forms as the only stage in mammals, high parasitemia levels and continuous TS shedding suggest that developing strategies to support the enzymes for long in blood is unnecessary. 3- Effect on mouse platelets: Five μ g of TScon1b and TScon2 were administered iv in two doses. Platelets were counted at 18h pa and again after 18h of a second dose. TScon1b induced significant thrombocytopenia after both doses, TScon2 only after the second dose. We have shown that by desialylation of platelet surface molecules, TScruzi induce thrombocytopenia. In assays 2 and 3, PBS-BSA 1% was used as control.

#105 - Expresión de la proteína recombinante codificada por el gen Tc00.1047053511071.140 de *Trypanosoma cruzi*

- Puente, Vanesa (CIPYP, Departamento de Química Biológica (FCEN, UBA))
vanesa_puente86@yahoo.com.ar
- Bontempi, Esteban (INP \"Fatala Chaben\")
- Lombardo, Maria Elisa (CIPYP, Departamento de Química Biológica (FCEN, UBA))

Trypanosoma cruzi, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, es un parásito hemodeficiente debido a que no es capaz de completar la síntesis de hemo. Sin embargo, la detección de ácido 5-aminolevúlico (ALA) en el medio de cultivo y la actividad de hemo sintetasa (Hemo- S) en epimastigotes de *T. cruzi*, avalarían la funcionalidad de la primera y la última de las enzimas involucradas en la biosíntesis de hemo, ALA sintetasa (ALA-S) y Hemo-S respectivamente. Estos reportes, sumado a evidencias obtenidas en *Leishmania* spp y *Crithidia fasciculata* (Identificación de genes homólogos a las 3 últimas enzimas del camino metabólico del hemo, detección de actividad de ALA-S en promastigotes), nos llevaron a emplear la base de datos GenDB con la cual se realizó una búsqueda avanzada de zonas del genoma del parásito que homologuen con buen score con la secuencias de las enzimas involucradas en la síntesis del hemo. Se encontraron dos secuencias nucleotídicas homólogas: Tc00.1047053511899.40 y Tc00.1047053511071.140, que podrían codificar para una proteína con actividad de ALA-S [Succinil-CoA + Glicina → ALA + CoA + CO₂]o 2-amino-3-cetobutirato-CoenzimaA Ligasa (KBL) [Acetil CoA + Glicina → aminoacetona + CoA + CO₂]. Luego de clonar esta secuencia y sobreexpresarla en un modelo bacteriano, procedimos a la purificación de la proteína recombinante. La etiqueta de polihistidina que le aporta el plásmido de expresión (pET22) permitió purificarla por cromatografía de afinidad, empleando una columna con Ni²⁺ inmovilizado, y detectarla por el ensayo de dotblot con un anticuerpo anti His. Empleando la proteína purificada se midió actividad de ALA-S y KBL, en ensayos de competencia por sustratos Succinil CoA/Acetil CoA. En condiciones de saturación con succinil CoA la proteína no fue capaz de sintetizar aminoacetona. Concluimos que la proteína codificada Tc00.1047053511071.140 correspondería a una enzima con actividad ALA-S, avalando la presencia de ALA en cultivos del parásito

#115 - Las proteínas de transcripción temprana (ETRAMPs) acotarían el rango de huéspedes de los parásitos de la malaria

- Montagna, Georgina (IIBIO-UNSAM Argentina, Max Planck for Infection Biology, Germany) montagnageo@gmail.com
- Matuschewski, Kai (Max Planck for Infection Biology, Germany)
- Hilmer, Cecilie (Max Planck for Infection Biology, Germany)
- Brandsma, Arianne (Max Planck for Infection Biology, Humbolt University, Germany)

Resumen de trabajo:

Las proteínas de membrana de transcripción temprana (ETRAMPs) son exclusivas de los parásitos de la malaria. Estas moléculas se expresan en las fases intracelulares de *Plasmodium*, se insertan en la membrana de la vacuola parasitófora (PVM), localizándose en la interfaz huésped-parásito. La proteína UIS4 (upregulated in sporozoites 4) es esencial para el parásito de la malaria de roedores, *P. berghei*, ya que la eliminación de la misma detiene su desarrollo durante la fase hepática. Además, la inmunización con esporozoítos uis4(-) induce protección estéril en ratones, lo cual podría traducirse como una estrategia de vacunación. A pesar de su relevancia, la función de UIS4 es desconocida y aun no se han identificado sus ortólogos en *P. falciparum*, el parásito que causa la malaria severa en humanos. Para caracterizar los dominios funcionales de esta proteína, generamos parásitos *P. berghei* que expresan una versión de UIS4 carente del dominio C-terminal. Observamos que los parásitos uis4Δc se detienen en su desarrollo en la etapa hepática, de manera similar a los parásitos uis4(-), lo que indica que el dominio C-terminal es crítico para la función de esta proteína. Para identificar qué miembro de la familia de ETRAMPs de *P. falciparum* es el potencial ortólogo de UIS4, generamos parásitos transgénicos donde la PbUIS4 endógena fue reemplazada por la ETRAMP8 o la ETRAMP10.3. A pesar de que ambas ETRAMPs se expresaron en los *P. berghei* transgénicos, el desarrollo de estos parásitos se vio afectado tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que indica que las ETRAMPs no logran complementar la función de PbUIS4. Por último, sustituimos PbUIS4 por su potencial ortólogo en *P. chaubaudi*, otro parásito que causa malaria en roedores, y observamos que esta proteína restablece la función de UIS4 en *P. berghei*. Estos resultados sugieren que *Plasmodium* expresaría proteínas especie-específicas en la PVM que explicarían parcialmente el rango acotado de huéspedes de los parásitos de la malaria.

#116 - Las peroxirredoxinas de Trypanosoma cruzi: enzimas multifuncionales claves para la supervivencia del parásito

- Piñeyro, María Dolores (Universidad de la República (Udelar))
pineyro@pasteur.edu.uy
- Chiribao, María Laura (Facultad de Medicina, Universidad de la República)
- Arias, Diego G. (Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. CONICET-UNL. Santa Fe, Argentina.)
- Robello, Carlos (Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay)
- Parodi-Talice, Adriana (Sección Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay)

Las triparredoxina peroxidasa citosólica (c-TXNPx) y mitocondrial (m-TXNPx) de *T. cruzi* son peroxirredoxinas (Prxs) de 2-Cys muy eficientes. En forma previa, demostramos que c-TXNPx se sobre-oxida *in vitro*, forma oligómeros de alta masa molecular y presenta actividad chaperona, siendo ésta una característica compartida con otras Prxs. El objetivo de este trabajo fue continuar la caracterización de las Prxs de *T. cruzi*. Puntualmente, evaluamos la dinámica de la sobre-oxidación y oligomerización de c-TXNPx y m-TXNPx y sus posibles roles como chaperonas moleculares (en condiciones de estrés térmico en epimastigotas de *T. cruzi*). Los datos obtenidos mostraron que tanto c-TXNPx y m-TXNPx exhiben un fenómeno de sobre-oxidación *in vivo* e *in vitro* frente al tratamiento con H₂O₂, mostrando diferencias de sensibilidad entre ellas. La sobreoxidación de c-TXNPx se observó en la forma monomérica y en formas oligoméricas de alta masa molecular. Por el contrario, la m-TXNPx mostró señal de sulfinilación solo en formas monoméricas o diméricas. Determinamos que en amastigotas en el contexto de la infección hay señal de sobreoxidación y esta señal se corresponde en mayor medida con c-TXNPx, existiendo menos señal que se corresponda con m-TXNPx. Además, observamos que la m-TXNPx presentó actividad chaperona, exhibiendo una dinámica de oligomerización bajo condiciones redox diferentes a la c-TXNPx. Los parásitos sobre-expresantes de las Prxs presentaron una moderada termotolerancia, mostrando una fuerte inducción de las Prxs cuando fueron incubados a 37 °C (esto tanto en sobre-expresantes como en salvajes). Los resultados indican que existen diferencias en la dinámica de sobre-oxidación y oligomerización de las Prxs citosólica y mitocondrial y que esto podría ser de importancia en su rol como factores de virulencia lo que impulsa a continuar los estudios en mayor profundidad.

#122 - Mecanismo de inhibición de la actividad arginina quinasa de *Trypanosoma cruzi* por parte de la delfinidina y predicción de su modo de interacción

- Valera-Vera, Edward (IDIM (UB) edwardverval@gmail.com)
- Reigada, Chantal (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)
- Sayé, Melisa (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)
- Miranda, Mariana (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)
- Pereira, Claudio (IDIM (UBA-CONICET) Dr. Alfredo Lanari)

La arginina quinasa de *T. cruzi* (*TcAK*) cataliza la transferencia de fosfato entre arginina y fosfoarginina para mantener el balance ATP/ADP, está involucrada en respuesta a estrés, y tiene un gran potencial farmacológico por ser una enzima ausente en mamíferos. Algunos compuestos polifenólicos son capaces de inhibir esta enzima, y la delfinidina fue predicha mediante herramientas computacionales como un posible inhibidor de la enzima. En este trabajo se midió la actividad *TcAK* en presencia de distintas concentraciones de delfinidina, arginina, y ATP para determinar el mecanismo de inhibición, para calcular los parámetros cinéticos K_m y V_{max} . Se observó que para ambos sustratos la V_{max} disminuye a medida que aumenta la concentración de inhibidor, mientras que la K_m no mostró variaciones estadísticamente significativas. Esto señala un mecanismo de inhibición no competitiva para ambos sustratos. Se produjo un modelo de la interacción mediante acoplamiento molecular con AutoDock Vina en los dos bolsillos con mayor probabilidad de unión de ligandos según el software fPocket 2.0. Las poses mejor puntuadas interactuaban con el bolsillo de unión de ATP, a pesar de que en la cinética de inhibición no se mostraba competición con este sustrato, lo que podría significar que el inhibidor se une a una conformación de la proteína diferente a la cual se une el ATP. Se re-evaluaron con NN-Score 2.0, una red neuronal entrenada con datos experimentales de complejos proteína-ligando, y la mejor pose se evaluó por dinámica molecular con GROMACS 5.1. En la simulación la proteína adquirió una conformación diferente a la de unión a sus sustratos, reajustando la posición de la delfinidina, que mantuvo la interacción con gran parte de los residuos predichos en el acoplamiento. Estos resultados permiten la búsqueda y diseño de nuevos inhibidores de la enzima con mejores características farmacocinéticas y farmacodinámicas que puedan ser explorados como tratamiento de la enfermedad de Chagas.

DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

#91 - Picolinas como estructura base para el reposicionamiento de drogas en Chagas

- Musikant, Daniel (Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – UBA)
musi90@gmail.com
- Ferri, Gabriel (IQUIBICEN - UBA - CONICET)
- Freije Garcia, Fabricio (Dpto. Química Orgánica - UMYMFOR - UBA - CONICET)
- García Linares, Guadalupe (Dpto Química Orgánica- UMYMFOR - UBA - CONICET)
- Edreira, Martín Miguel (Dpto Química Biológica - IQUIBICEN - UBA - CONICET)

Los tratamientos tradicionales para la Enfermedad de Chagas (Benznidazol y Nifurtimox) demostraron efectividad sólo en algunas etapas de la enfermedad. Sin embargo, producen efectos secundarios severos en los pacientes y la emergencia de poblaciones de parásitos resistentes. Existen numerosos compuestos que presentan en su estructura un anillo de piridina que poseen actividad biológica, abarcando propiedades tan diversas como antiparasitarios, antivirales, antifúngicos, antimicrobianos, citotóxicos, etc. En el marco de la búsqueda de alternativas terapéuticas para la Enfermedad de Chagas, se sintetizó enzimáticamente una serie de compuestos derivados de un anillo piridínico utilizando como agentes acilantes ácidos carboxílicos de diferente longitud de cadena y diferente número de insaturaciones.

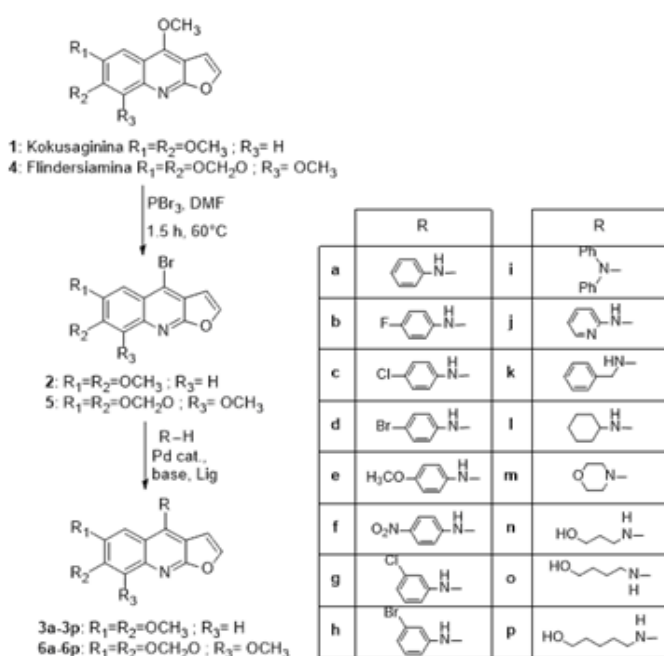
Todos los compuestos de la serie se ensayaron en una línea celular humana y mostraron diferentes niveles de citotoxicidad ($300 \mu\text{M} < \text{IC}_{50\text{s}} < 75 \mu\text{M}$). La actividad de los compuestos se determinó en distintas concentraciones sobre las formas tripomastigote de *T. cruzi* cepas RA (DTU VI) e Y (DTU II) ($\text{IC}_{50\text{s}} < 50 \mu\text{M}$ en ambas cepas). Se observó que la longitud de la cadena alifática y las insaturaciones correlacionaron con mayor actividad sobre los parásitos. Sin embargo, los compuestos que presentan insaturaciones también resultaron más tóxicos para las células humanas. Tomando en cuenta que los compuestos sintetizados mostraron una moderada actividad biológica se realizó una búsqueda por similitud estructural en bases de datos de medicamentos, drogas y compuestos derivados de productos naturales. Los resultados mostraron dos compuestos naturales (O-157 y L-157) con estructura similar a algunos compuestos de la serie (índices de Tanimoto $> 0,5$). Se trata de compuestos accesibles comercialmente para los que existen antecedentes que demuestran actividad *in vitro* e *in vivo* contra *Plasmodium spp.* Además, está reportado que el consumo de alimentos ricos en estos compuestos provee beneficios en la prevención de enfermedades cardiovasculares.

El análisis quimioinformático de la serie de compuestos permitió identificar dos compuestos de origen natural que orientarán hacia posibles modificaciones estructurales que hipotéticamente optimizarían la actividad de las moléculas originales de la serie. Asimismo, los antecedentes y las características descriptas de los compuestos identificados sugieren que podría ensayarse su actividad biológica *in vitro* sobre la forma tripomastigote de *T. cruzi*.

#30 - Actividad antiparasitaria in vitro de derivados de alcaloides de origen natural

- Bernal Gimenez, Diana Maria (IQUIBICEN-DQB (CONICET-FCEN-UBA))
dbernalpy@gmail.com
- Valdez, María Belén (UMYMFOR-DQO (CONICET-FCEN-UBA))
- Fernández, Lucía Raquel (UMYMFOR-DQO (CONICET-FCEN-UBA))
- Musikant, Alejandro Daniel (IQUIBICEN-DQB (CONICET-FCEN-UBA))
- Avigliano, Esteban (Fund. "Bosques Nativos Arg. Biodiversidad" - (CIAR))
- Palermo, Jorge Alejandro (UMYMFOR-DQO (CONICET-FCEN-UBA))
- Edreira, Martín Miguel (IQUIBICEN-DQB (CONICET-FCEN-UBA))

A partir de kokusaginina y flindersiamina, dos alcaloides furoquinolínicos abundantes aislados de la corteza del árbol Guatambú Blanco, se prepararon 31 nuevos derivados. Los alcaloides de partida presentan actividad contra *Plasmodium falciparum* (Basco et al., 1994; Dolabela et al., 2008), pero no así frente a tripomastogites de *T. cruzi* (Biavatti et al., 2002). Los derivados fueron obtenidos por reacción con diferentes aminas aromáticas y alifáticas, mediante sustitución nucleofílica aromática o el acoplamiento de Buchwald-Hartwig en el anillo piridínico.



Inicialmente, los compuestos fueron evaluados frente a epimastigotes de *T. cruzi* a 1 y 10 ug/ml. Tanto kokusaginina como flindersiamina resultaron inactivos, sin embargo, 17 de los nuevos derivados mostraron altos porcentajes de inhibición a la máxima concentración ensayada.

La mayoría de los derivados con aminas aromáticas, mostraron buenos porcentajes de inhibición para ambas series, sin embargo, contrario a lo observado para la familia de compuestos obtenidos a partir de kokusaginina, que no provocaron efecto alguno sobre los

parásitos, uno productos de la reacción entre flindersiamina y aminas alifáticas, mostró un alto porcentaje de inhibición. A continuación, se obtuvieron de manera simultánea, los valores de IC50 frente a tripomastigotes y células Hela, y se calcularon los índices de selectividad de algunos de los compuestos que demostraron buena actividad frente a epimastigotes. Se obtuvieron índices de selectividad superiores a 50 para 2 de los derivados.

A partir de productos naturales abundantes fue posible obtener nuevos derivados con potencial actividad tripanocida.

#31 - Efecto tripanocida de análogos estructurales del cristal violeta

- Martínez Sayé, Melisa (Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM, UBA-CONICET)) melisa.msaye@hotmail.com
- Reigada, Chantal (Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM, UBA-CONICET))
- Valera-Vera, Edward (Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM, UBA-CONICET))
- Miranda, Mariana (Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM, UBA-CONICET))
- Pereira, Claudio A. (Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM, UBA-CONICET))

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, afecta alrededor de 7 millones de personas en América Latina. El cristal violeta (CV) se utilizó durante muchos años como aditivo en bancos de sangre para prevenir la transmisión de la enfermedad por transfusiones. En *T. cruzi*, la prolina puede ser utilizada como fuente de carbono y energía alternativa a la glucosa, y es importante no sólo para el crecimiento sino también para la diferenciación entre estadios y la patogénesis. Previamente reportamos el CV como inhibidor del transportador de prolina TcAAAP069 y lo usamos como molécula de referencia en un *virtual screening* para identificar fármacos aprobados estructuralmente similares al CV con efecto biológico similar y menor toxicidad. La clofazimina (CFZ, antibiótico), la loratadina y la ciproheptadina (LTD y CPH, antihistamínicos) inhibieron el transporte de prolina con diferente eficacia y presentaron acción tripanocida en todos los estadios del ciclo de vida en la cepa Y. Finalmente reportamos sinergismo entre los análogos de CV y benznidazol (BZL) en epimastigotes. Continuando con este trabajo, observamos este sinergismo en tripomastigotes de la cepa Y, así como también el efecto tripanocida en todos los estadios de las cepas Dm28c y CL Brener. Los epimastigotes de la cepa Dm28c fueron más sensibles a LTD y CPH, y los tripomastigotes de la cepa CL Brener fueron más sensibles a todos los tratamientos. Sin embargo, en amastigotes no se observó una respuesta homogénea a las drogas. Por último, comenzamos a evaluar la acción de los análogos de CV en promastigotes de *T. brucei brucei*, obteniendo IC50s entre 1 y 31 μ M, similares a las de *T. cruzi*. En conclusión, estos resultados sugieren que estos análogos del CV son interesantes puntos de partida para el desarrollo de tratamientos alternativos para las tripanosomiasis humanas.

#35 - Modelado in silico híbrido para la búsqueda de nuevos inhibidores de PDEs de tripanosomátidos

- Alberca, Lucas Nicolas (LIDeB (UNLP) - INGEBI) lucasalberca@gmail.com
- Llanos, Manuel (LIDeB (UNLP))
- Alice, Juan Ignacio (LIDeB (UNLP))
- Caram Romero, Franco (LIDeB (UNLP))
- Rodriguez, Santiago (LIDeB (UNLP))
- Bellera, Carolina (LIDeB (UNLP))
- Gavernet, Luciana (LIDeB (UNLP))
- Alonso, Guillermo (INGEBI - CONICET)
- Talevi, Alan (LIDeB (UNLP))

En tripanosomátidos, la vía de señalización del AMP cíclico interviene en procesos relevantes como la diferenciación, proliferación y regulación osmótica. Las fosfodiesterasas de nucleótidos cíclicos (PDEs), son enzimas fundamentales en la regulación de dicha vía y se presentan como blancos moleculares interesantes para la búsqueda de nuevos fármacos ya que son esenciales para los parásitos, presentan diferencias con las PDEs humanas y son altamente drogables.

Nuestro objetivo es la identificación de nuevos inhibidores de las PDEs de *T. cruzi* y *T. brucei* mediante una combinación de métodos *in silico* que incluye análisis de drogabilidad, métodos basados en el ligando y métodos basados en la estructura.

Se compiló inicialmente una base de datos de 280 compuestos evaluados *in vitro* sobre la PDEb1 de *T. brucei* (TbPDEb1) cuyos monómeros son estructuralmente similares a los de las PDEs de *T. cruzi*. Dicho set de datos se utilizó para generar 1000 modelos lineales capaces de identificar inhibidores de la TbPDEb1. Los mejores modelos fueron combinados para obtener meta-clasificadores con mayor capacidad predictiva y validados mediante cribado virtual (CV) retrospectivo calculando diversos parámetros de enriquecimiento. El mejor meta-clasificador obtuvo un área bajo la curva ROC de 0.99 en su validación.

Utilizando todas las estructuras experimentales disponibles de TbPDEs, se realizaron experimentos de re-docking y cross-docking para identificar los mejores modelos de docking en términos de predicción de pose. Luego, mediante el set de datos previamente compilado se evaluó la capacidad predictiva de los modelos en términos de "scoring", y su potencial aplicación al CV.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las instancias de validación, ambas aproximaciones serán aplicadas de manera conjunta en la búsqueda asistida por computadora de nuevos inhibidores de las PDEs de tripanosomátidos. Los candidatos seleccionados serán evaluados *in vitro* frente a las PDEs.

#44 – Tratamiento con isotretinoína en la infección crónica murina por *Trypanosoma cruzi* Nicaragua

- Rial, Marcela (Instituto Nacional de Parasitología Dr. M Fatała Chaben, INP) marcelarial2@hotmail.com
- Reigada, Chantal (Instituto Lanari)
- Esteva, Mónica (Instituto Nacional de Parasitología Dr. M Fatała Chaben, INP)
- Bua, Jacqueline (Instituto Nacional de Parasitología Dr. M Fatała Chaben, INP)
- Prado, Nilda (Instituto Nacional de Parasitología Dr. M Fatała Chaben, INP)
- Pereira, Claudio (Instituto Lanari)
- Fichera, Laura (Instituto Nacional de Parasitología Dr. M Fatała Chaben, INP)

En trabajos previos, mostramos que el ácido 13-*cis*-retinoico, isotretinoína (ISO) usado para el tratamiento del acné severo o quístico, es un potente inhibidor del transportador de poliaminas de *Trypanosoma cruzi* y actúa como tripanocida *in vitro*.

En este trabajo estudiamos el efecto de la ISO en ratones C57BL/6J con infección crónica por *T. cruzi* Nicaragua (*TcN*) con un esquema de administración diario y otro intermitente, y los resultados fueron comparados con los del tratamiento con benznidazol. Ratones C57BL/6J infectados con *TcN*, fueron tratados en la fase crónica de la infección con 30 dosis diarias de ISO en una concentración de 5 mg/kg/día (ISO 5c) o 13 dosis intermitentes (1 dosis cada 7 días) de 50 mg/kg/día (ISO 50it). La efectividad de los tratamientos se evaluó midiendo la parasitemia por qPCR, la serología por ELISA, y la histopatología de los corazones mediante índices de inflamación y de fibrosis, evaluadas por tinción con Hematoxilina y Eosina y tricrómico de Masson, respectivamente. Las alteraciones de la actividad eléctrica de los corazones se analizaron por electrocardiogramas. Las parasitemias fueron negativas con los dos esquemas de tratamiento usados. La inflamación disminuyó, aunque no significativamente, pero se puede hipotetizar que evitó la progresión hacia la fibrosis ya que ésta tuvo una disminución significativa con ambas dosis utilizadas. Los títulos de anticuerpos específicos para *T. cruzi* no se modificaron, ya que posiblemente sea necesario más tiempo para analizarlo. Los electrocardiogramas mostraron una normalización de la disminución de la frecuencia cardíaca y del aumento del intervalo PR observado en los ratones infectados no tratados. La disminución de la carga parasitaria sin progresión de la patología cardíaca ni por el desarrollo de fibrosis ni por alteraciones en la actividad eléctrica, indican que la ISO podría resultar efectiva como una opción de reposicionamiento de drogas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

#121 - Estudio de derivados de diaminas N,N'-disustituidas como inhibidores del transporte de putrescina en *Trypanosoma cruzi*

- Recio-Balsells, Alejandro (IQUIR-CONICET) reciobalsells@iquir-conicet.gov.ar
- Reigada, Chantal (Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari)
- Mediavilla, María Gabriela (IBR-CONICET)
- Cricco, Julia (IBR-CONICET)
- Pereira, Claudio A. (Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari)
- Labadie, Guillermo (IQUIR-CONICET)

Nuestro grupo ha propuesto y sintetizado diaminas alifáticas N,N'-disustituidas (N,N'-di) como potenciales agentes antiparasitarios. Las colecciones de derivados sintetizados han mostrado una potente actividad sobre parásitos tripanosomátidos (*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Trypanosoma brucei*) y apicomplejos (*Plasmodium falciparum* y *Toxoplasmosis gondii*). Debido a que hemos validado su actividad mediante ensayos fenotípicos, desconociendo su mecanismo de acción, nos propusimos abordar su estudio. Teniendo en cuenta que las diaminas, son precursores biosintéticos de las poliaminas y el importante rol que juegan estos metabolitos en el desarrollo de los parásitos, decidimos evaluar si eran inhibidores del transporte de poliaminas. Con este propósito realizamos una selección de los compuestos teniendo en cuenta la diversidad estructural y una potente actividad ($IC_{50} \leq 1 \text{ uM}$) en al menos uno de los estadios (epimastigote y amastigote) de *T. cruzi*. Es de recalcar que ciertos derivados demostraron actividad frente a los dos estadios y en otros casos una selectividad frente al estadio epimastigote o amastigote. Los ensayos preliminares de incorporación de putrescina en epimastigotes de *T. cruzi* (CL Brener) inhibieron el transporte de esta molécula, sin embargo, la inhibición es variable de un análogo a otro. En particular, el derivado Tc8 (N,N'-dibencil dodecildiamina) fue uno de los compuestos más activos contra el *T. cruzi* ($IC_{50} = 0,60 \text{ uM}$, epimastigotes CL Brener) y coincidentemente el que mostró mayor inhibición del transporte ($IC_{50} = 10,5 \text{ uM}$). Los resultados preliminares obtenidos permiten aseverar que la inhibición del transporte de putrescina sería uno de los mecanismos operativos en el modo de acción de las diaminas N,N'-di.

#103 - Sistemas microparticulados de benznidazol diseñados para incrementar su eficiencia de disolución

- Seremeta, Katia Pamela (UNCAUS/CONICET) kseremeta@uncaus.edu.ar
- Okulik, Nora Beatriz (UNCAUS/CONICET)
- Salomon, Claudio Javier (IQUIR-CONICET/Universidad Nacional de Rosario)

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria desatendida grave, causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi*, que afecta entre 7-8 millones de personas alrededor del mundo siendo endémica en Argentina. Aunque existen dos fármacos para su tratamiento, benznidazol y nifurtimox, ambos presentan inconvenientes como producción de efectos adversos que pueden resultar en la suspensión del tratamiento. Si bien, benznidazol es el fármaco de primera línea presenta baja solubilidad acuosa ($<0,4$ mg/mL) lo que puede limitar su velocidad de disolución y, por lo tanto, su absorción y biodisponibilidad oral. La microtecnología surge como una estrategia para incrementar la eficiencia de disolución en medio acuoso de fármacos hidrofóbicos mediante una reducción del tamaño de las partículas y un aumento del área superficial. Sin embargo, es necesario evaluar la estabilidad de las micropartículas obtenidas. El objetivo de este estudio fue determinar la eficiencia de disolución y estabilidad de micropartículas poliméricas de benznidazol. Las mismas se obtuvieron mediante spray-dying utilizando Eudragit® RS PO y RL PO como vehículos. Seguidamente, se llevaron a cabo ensayos de disolución y estudios de estabilidad de almacenamiento a temperatura ambiente durante tres años. Los resultados evidenciaron que la eficiencia de disolución de las formulaciones a los 15 minutos fue 3,1-3,8 veces mayor que la de benznidazol puro debido a la disminución del tamaño a la escala micrométrica (<2 μ m). Los estudios de estabilidad demostraron que no hubo diferencia significativa ($p>0.05$) en la capacidad de carga de las micropartículas (23%) hasta 36 meses luego de su almacenamiento respecto al tiempo cero (recién preparadas). Como conclusión, los resultados evidencian que estas nuevas formulaciones de micropartículas de benznidazol presentan mayor eficiencia de disolución y son estables en el tiempo por lo que podrían ser una herramienta útil para mejorar el tratamiento de esta enfermedad.

#101 - Nanopartículas poliméricas de fenbendazol. ¿Una nueva alternativa para incrementar su disolución?

- Bedogni, Giselle (Instituto de Química Rosario) gisellebedogni@gmail.com
- Okulik, Nora (Laboratorio de Procesos Químicos, Universidad Nacional del Chaco Austral)
- Seremeta, Katia (Laboratorio de Procesos Químicos, Universidad Nacional del Chaco Austral)
- Salomon, Claudio (Instituto de Química Rosario, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas)

Fenbendazol es un antiparasitario veterinario que posee baja solubilidad acuosa ($<0,12$ $\mu\text{g/mL}$), lo que puede derivar en una baja biodisponibilidad. La aplicación de nanotecnología es una alternativa viable para mejorar esas propiedades. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue preparar nanopartículas poliméricas de fenbendazol por medio de una nanoprecipitación, disolviendo fenbendazol y Eudragit (RSPO-RLPO) en la fase orgánica y Kolliphor (P188-P407) en la fase acuosa. Las nanopartículas fueron recuperadas por liofilización y se caracterizaron fisicoquímicamente. Dicho análisis demostró que las nanopartículas RL/407, RL/188, RS/407 y RS/188 presentaron tamaños de 364 ± 16 , 511 ± 47 , $711\pm 67,99$ y $1812\pm 20,49$ nm respectivamente. El análisis térmico indicó que solo RL/407 y RL/188 presentaron una modificación parcial del estado cristalino de fenbendazol. Según los perfiles de disolución, luego de 120 minutos solo el $2,86\pm 0,93\%$ del fármaco puro fue disuelto, mientras que las nanopartículas presentaron un aumento significativo en este porcentaje (p valor $<0,0001$). Para RL/407, RL/188, RS/188 y RS/407 los valores fueron $27\pm 1,66$, $25\pm 1,47$, $7\pm 1,03$ y $11\pm 0,29\%$, indicando además diferencias significativas entre las distintas nanoformulaciones (p -valor $<0,007$). En conclusión, la encapsulación del fenbendazol en Eudragit RSPO o RLPO es un buen método para incrementar relativamente la solubilidad acuosa de este fármaco.

#95 - Ivermectina en tripanosomátidos: ¿Importinas α un posible blanco molecular?

- Ruiz, Maria Daniela (ICT Milstein - CONICET) mdanielaruiz@gmail.com
- Balcazar, Dario (CEPaVe - CONICET - UNLP)
- Clausi, Agustina (ICT-Milstein - CONICET)
- De Pino, Verónica (ICT-Milstein - CONICET)
- Larocca, Luciana (ICT-Milstein - CONICET)
- Stolowicz, Fabiana (ICT-Milstein - CONICET)
- Carrillo, Carolina (ICT-Milstein - CONICET)
- Fraccaroli, Laura (ICT-Milstein - CONICET)

Los tripanosomátidos son protozoos de la clase Kinetoplastida de vida libre o parásitos y algunos resultan patógenos de humanos. La eficacia de los tratamientos disponibles suele ser limitada y tener efectos adversos, por lo que son necesarias nuevas estrategias tripanocidas. La ivermectina (IVM), antiparasitario de amplio espectro, de uso humano y veterinario, presenta baja toxicidad y costo de producción y se postula como candidata interesante a droga tripanocida.

En ensayos *in vitro*, IVM disminuyó la proliferación de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* y de promastigotes de *Leishmania mexicana* y *Phytomonas jma 066* (EC₅₀ de 12,5, 11,7 y 5,5 μ M respectivamente). Estos efectos no se observaron en coanomastigotes de *Crithidia fasciculata*, en línea con otros estudios que indican que estos organismos son más resistentes al efecto de drogas tripanocidas en modelos *in vitro*.

Con el objetivo de establecer posibles blancos moleculares de IVM en tripanosomátidos, reportes bibliográficos demostraron que IVM actúa sobre importinas α (IMP α - proteínas esenciales en el transporte celular) de mamíferos y *Plasmodium falciparum*. Mediante una búsqueda por similitud de secuencia de aminoácidos sobre genomas de tripanosomátidos se encontraron putativas IMP α . El alineamiento múltiple de secuencias de aminoácidos de IMP α de diversos tripanosomátidos, determinó una similitud del 76%. Análisis estructurales indicaron que las IMP α de tripanosomátidos presentan entre 6 y 8 dominios Armadillo (ARM) repetitivos, pero no se ha hallado el dominio IBB (secuencia de unión a la importina β) coincidente con las características descriptas para IMP α de otras especies.

Estos resultados muestran que IVM tiene efectos inhibitorios en la proliferación *in vitro* de diversos tripanosomátidos, que podrían relacionarse con su unión a IMP α , ampliando el espectro de drogas candidatas para su estudio en la enfermedad de Chagas y otras causadas por tripanosomátidos.

#96 - Avances en el estudio del efecto de Ivermectina en la enfermedad de Chagas

- Ruiz, Maria Daniela (ICT Milstein - CONICET) mdanielaruiz@gmail.com
- Clausi, Agustina (ICT-Milstein - CONICET)
- Larocca, Luciana (ICT-Milstein - CONICET)
- De Pino, Verónica (ICT-Milstein - CONICET)
- Vanrell, Cristina (IHEM - CONICET - UNCUYO)
- Romano, Patricia (IHEM - CONICET - UNCUYO)
- Carrillo, Carolina (ICT-Milstein - CONICET)
- Fraccaroli, Laura (ICT-Milstein - CONICET)

La enfermedad de Chagas es causada por el protozoo parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Las terapias actuales (benznidazol - BZN y nifurtimox - NFX) poseen una eficacia limitada y múltiples efectos adversos. Por este motivo, es necesario identificar nuevas estrategias tripanocidas más efectivas y específicas. La ivermectina (IVM) es una droga antiparasitaria de amplio espectro de uso humano y veterinario. Su baja toxicidad en humanos y su bajo costo de producción la postulan con una candidata interesante para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

El objetivo de este trabajo fue avanzar en el estudio de los efectos de IVM en *T. cruzi*, utilizando a la cepa Y (DTU II) como modelo de estudio. En trabajos previos determinamos que IVM reduce significativamente la proliferación y viabilidad de los epimastigotes de *T. cruzi* con un EC50 de 12,5 uM (10,8 - 14,5 uM). En línea con este resultado, en ensayos de recuperación sobre epimastigotes observamos que los efectos de IVM dependen de la concentración de la droga pero no del tiempo de exposición, siendo tripanocida a 100 uM - entre 30 min y 4 h de exposición- y manteniendo efectos tripanostáticos a 50 uM en todos los tiempos evaluados. El índice de selectividad fue de 2,4 (CC50 29,9 uM en las células Vero). Ensayos de combinación de IVM con BZN y NFX mostraron un efecto aditivo para la mayoría de las concentraciones con algunos puntos de combinación que presentaron efectos antagónicos, probablemente relacionado con que las drogas posean mecanismos de acción distintos y antagónicos. Finalmente, la IVM disminuyó significativamente la viabilidad de tripomastigotes derivados de cultivo (TCTs) de modo dosis dependiente a las 24 h de exposición a 4°C.

Estos resultados muestran que IVM tiene efectos sobre la proliferación y viabilidad de epimastigotes y TCTs de la cepa Y de *T. cruzi* sugiriéndola como una candidata interesante para su estudio en la enfermedad de Chagas.

#111 - Actividad leishmanicida del falvonol galangina, y posible mecanismo de acción *in vitro*

- García Bustos, Maria Fernanda (Instituto de Patología Experimental (CONICET))
mariafernandagarcia2008@yahoo.com.ar
- Parodi, Cecilia (Instituto de Patología Experimental (CONICET))
- Pimentel, Julia (Instituto de Patología Experimental (CONICET))
- Sánchez, Fernando (Instituto de Patología Experimental (CONICET))
- Sosa, Andrea (Instituto de Patología Experimental (CONICET))
- Barroso, Paola (Instituto de Patología Experimental (CONICET))

Introducción: en los últimos años, ha crecido el interés en la investigación de productos naturales para el tratamiento de la leishmaniasis. La actividad leishmanicida de algunos extractos de plantas se ha atribuido a los flavonoles (Fn), grupo de compuestos polifenólicos de origen natural, que presentan diversas propiedades farmacológicas tales como actividad antineoplásica y antimicrobiana, entre otras. Objetivo: estudiar el efecto leishmanicida de cuatro Fn y determinar su mecanismo de acción *in vitro*. Metodología: promastigotes y amastigotes intracelulares de *L. (L.) amazonensis* se cultivaron en diferentes concentraciones de los Fn. Se evaluó la actividad leishmanicida de los Fn galangina, morina, rutina y fisetina. Glucantime y pentamidina se utilizaron como controles positivos de inhibición del parásito, mientras que los controles negativos sólo recibieron medio de cultivo. Luego de la incubación, se determinó la viabilidad de los parásitos mediante métodos convencionales, y se determinó la concentración inhibitoria 50% (CI50) de cada compuesto. Además, se determinó la toxicidad de los compuestos en la línea celular Raw mediante el método del MTT y el índice de selectividad (IS). También se evaluaron los posibles mecanismos de acción del Fn más activo *in vitro*. Resultados: de los Fn estudiados, galangina fue el compuesto más activo en promastigotes y amastigotes intracelulares, con valores de CI50 de 53.09 μ M y 20,59 μ M, respectivamente. Además, el IS de la galangina fue mayor a 1, mostrando mayor actividad contra *Leishmania* que contra la célula huésped. Por microscopía electrónica observamos que promastigotes tratados con galangina presentaron distintos signos de toxicidad celular como tumefacción mitocondrial, cuerpos de inclusión lipídica, vesículas en el bolsillo flagelar, vacuolización, estructuras membranosas concéntricas dentro del citoplasma, y separación de la membrana nuclear. Además, galangina estimuló significativamente la producción de IL-12-p70 en macrófagos infectados con respecto al control negativo. Conclusión: nuestros resultados muestran que galangina es un candidato prometedor para el desarrollo de un nuevo tratamiento para la leishmaniasis.

#120 - Evaluation of antigenic potential of proteins released by *Tritrichomonas foetus*

- Rivero, Fernando (IMSaTeD (UNSE-CONICET)) fdparasito@gmail.com
- Abdala, Maria Eugenia (IMSaTeD, UNSE-CONICET)
- Luque, Melchor Emilio (IMSaTeD, UNSE-CONICET)
- Rivero, María Belén (IMSaTeD, UNSE-CONICET)
- Di Iullo, David (IMSaTeD, UNSE-CONICET)
- Luna, Bruno Elías (IMSaTeD, UNSE-CONICET)
- Carranza, Pedro Gabriel (IMSaTeD, UNSE-CONICET)

"Bovine Tricomonosis" (BT), caused by infection with the flagellated parasite *Tritrichomonas foetus* (Tf), is a sexually transmitted disease limited to the urogenital tract of cattle. It causes endometritis, infertility and premature death of the embryo, which generates considerable economic losses. It is a disease of worldwide distribution and in Argentina it's considered endemic. Excretion/secretion Proteins (ESP) have been shown to be virulence factors in Tf and constitute a target for the development of diagnostic methods and vaccines. The objective was to determine the antigenic potential of ESPs previously purified and characterized by mass spectrometry (MALDI-TOF) from six Tf isolates (Tf0-Tf5). On the one hand, we evaluated the ability of the antibodies obtained from mice previously immunized with the ESPs from Tf3 to detect the proteins purified from the six isolates. On the other hand, we used the purified ESPs to design immunoassays to evaluate their ability to detect specific antibodies present in sera from infected bulls. The results showed that antibodies from mice immunized with Tf3 ESPs were able to recognize antigens from all isolates in spot and western blot assays. Additionally, the ESPs of the six isolates were effective in detecting antibodies present in sera from infected bulls using the same techniques. The observed results and the fact that excretion-secretion proteins are released to the vaginal and preputial environment, increasing the possibility of detection, show that they are excellent candidates for the development of new TB diagnostic methods.

#42 - Evaluación de la PCR en tiempo real dúplex (qPCR) con sondas TaqMan para la detección de la infección por *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangre periférica congeladas anticoaguladas con EDTA

- Apodaca, Sofia (INGEBI-CONICET) so.apodaca@gmail.com
- Besuschio, Susana A. (INGEBI-CONICET)
- Muñoz Calderón, Arturo (INGEBI-CONICET)
- García de Zuñiga Bedoya, María Alexandra (INGEBI-CONICET)
- Longhi, Silvia A. (INGEBI-CONICET)
- Schijman, Alejandro G. (INGEBI-CONICET)

La qPCR multiplex para detectar la infección por *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Enfermedad de Chagas (ECh), ha sido validada y estandarizada en estudios multicéntricos para el monitoreo del tratamiento anti-parasitario a partir de 5 o 10 mL de sangre periférica mezclada con un volumen igual de clorhidrato de guanidina 6 M / EDTA 0.2 M pH: 8.0. El objetivo de este trabajo fue realizar una validación analítica del método de qPCR a partir de muestras de sangre congeladas utilizando EDTA como anticoagulante (sangre-EDTA). El rango anticipado reportable y el límite de detección (LOD95) se estimaron utilizando sangre-EDTA no infectada inoculada con epimastigotes de la cepa CL-Brener (TcVI) en concentraciones de 0,1, 0,5 y 1 equivalentes parasitarios por mililitro (p.e/mL). Los datos fueron analizados por el criterio de Tukey para detectar valores atípicos del control de amplificación interno; el LOD se calculó con el software Probit MedCalc, obteniendo un valor de 0,27 (IC 95% [0,16-1,26]) p.e/mL. El método se utilizó en un muestreo de conveniencia para monitorear una serie de casos con ECh en distintas situaciones clínicas: 5 casos de reactivación de la infección en pacientes con ECh Crónica que recibieron un trasplante de órgano, 2 pacientes seronegativos que desarrollaron ECh Aguda luego de recibir un trasplante de órganos sólidos de donantes con ECh y un paciente con ECh y artritis reumatoidea bajo tratamiento inmunomodulador. En todos los casos, la qPCR con muestras de sangre-EDTA fue útil para monitorear y tomar decisiones sobre el tratamiento de los pacientes, ya sea con drogas anti-parasitarias o inmunomoduladoras, pudiendo incluso detectar la presencia de parásitos cuando el Strout aún permanecía negativo.

La relevancia de analizar la infección por *T. cruzi* en muestras de sangre-EDTA radica en su disponibilidad comercial en diversos formatos y su uso actual en las instituciones de salud.

#63 - Establecimiento de una única curva estándar para cuantificación de las poblaciones naturales de *Trypanosoma cruzi* utilizando una secuencia consenso de ADN satélite sintética

- Muñoz Calderón, Arturo (INGEBI-CONICET, Argentina) arturomc35@gmail.com
- Silva-Gomes, Natalia (Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil)
- Apodaca, Sofia (INGEBI-CONICET, Argentina)
- Alarcón de Noya, Belkisyolé (IMT-UCV, Caracas, Venezuela)
- Diaz-Bello, Zoraida (IMT-UCV, Caracas, Venezuela)
- Souza, Leticia (Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil)
- Costa, Alexandre (Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil)
- Brito, Constança (Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil)
- Moreira, Otacilio (Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil)
- Schijman, Alejandro (INGEBI-CONICET, Argentina)

La enfermedad de Chagas (ECh), causada por *Trypanosoma cruzi*, originalmente endémica de las Américas se ha extendido a países no endémicos debido a las migraciones, haciendo de las herramientas de diagnóstico y marcadores de la respuesta parasitológica al tratamiento necesidades prioritarias. La PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) se utiliza para la monitorización de pacientes con ECh, sin embargo, el número de copias y la secuencia de los genes utilizados como dianas moleculares presentan variabilidad entre las variantes genéticas de *T. cruzi*, limitando la precisión de las medidas cuantitativas. Con el objetivo de mejorar la precisión de la cuantificación por qPCR, hemos diseñado una molécula de ADN sintético con una secuencia de ADN satélite consenso (SatDNA) como estándar para la cuantificación de cargas de *T. cruzi* en muestras clínicas, independientemente de la cepa del parásito. El ADN sintético permitió la cuantificación de copias de SatDNA representativas de las diferentes unidades de tipificación discreta (UDT). Las cepas pertenecientes a UDT II, IV y V presentaron valores entre $1,21 \pm 0,38 - 2,13 \pm 1,16 \times 10^6$ copias de satDNA/genoma. Las cepas pertenecientes a UDT III y VI exhibieron $8,29 \pm 3,32$ y $7,60 \pm 2,71 \times 10^6$ copias/genoma, respectivamente, y la cepa UDT I mostró $0,25 \pm 0,06 \times 10^6$ copias/genoma. Una curva estándar basada en este ADN sintético permitió estimar las cargas parasitarias en pacientes con ECh de diferentes áreas geográficas infectados con diferentes genotipos parasitarios. Se obtuvo una alta concordancia de cargas al comparar los resultados obtenidos con las curvas estándar basadas en ADN extraído de sangre enriquecida con parásitos de cultivo. Este enfoque será valioso en los ensayos clínicos de fase III que incluyan pacientes de diferentes procedencias geográficas, para el seguimiento de pacientes con riesgo de reactivación de la ECh por inmunosupresión, así como en modelos experimentales que trabajen con diferentes cepas de *T. cruzi*.

#58 - Mapeo antigénico exhaustivo de TSSA (Trypomastigote Small Surface Antigen) de *Trypanosoma cruzi*

- Romer, Guadalupe (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, UNSAM)
Romerguadalupe@gmail.com
- Balouz, V. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Bracco, L. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Agüero, F. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Buscaglia, C. A. (IIBio (UNSAM-CONICET))

Trypanosoma cruzi puede clasificarse en 6 linajes evolutivos o DTUs (discrete typing units), TcI-TcVI, los cuales presentan diferencias genotípicas, fenotípicas, eco-epidemiológicas y, aparentemente, también clínicas. TSSA es un antígeno de superficie de *T. cruzi* que presenta variaciones de secuencia entre las distintas DTUs, algunas de las cuales impactan en su funcionalidad biológica y reconocimiento humoral. Esto resulta de interés para el desarrollo de herramientas de serotipificación del parásito en muestras clínicas y/o biológicas. Sin embargo, la baja inmunogenicidad de algunas isoformas de TSSA y la similitud de secuencia entre otras, son características a resolver para optimizar la resolución y especificidad de las mismas. En el laboratorio se validó previamente a TSSAII, la isoforma expresada por TcII, TcV y TcVI, como antígeno para serodiagnóstico. Utilizando microarreglos de péptidos de 15 residuos (15mer) mapeamos una región inmunogénica en TSSAII, formada por varios epitopes B lineales parcialmente solapados. En este trabajo, reevaluamos dicha región utilizando 177 péptidos más cortos (8mer a 13mer), lo que nos permitió identificar al menos dos epitopes discretos. También, para explorar las causas del reconocimiento cruzado y de la baja inmunogenicidad de algunas isoformas, evaluamos la reactividad de un panel de 1554 péptidos quiméricos, en los que 1 a 10 residuos presentes en la secuencia de TSSAII original fue(ron) reemplazado(s) por el(los) presentes en alguna de las otras isoformas de TSSA identificadas en la naturaleza. Este análisis nos permitió observar la existencia de posiciones clave para el reconocimiento antigénico de TSSAII y obtener una mayor resolución epitópica para la discriminación entre isoformas. La integración y ampliación de estos resultados nos permitirá explotar al máximo la variabilidad de TSSA como marcador de serotipificación tanto para el mejor diagnóstico y manejo de los pacientes como para ensayos eco-epidemiológicos.

#89 - Caracterización genómica y evolutiva de TSSA (Trypomastigote Small Surface Antigen) de *Trypanosoma cruzi*

- Romer, Guadalupe (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín) Romerguadalupe@gmail.com
- Berná, L. (Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.)
- Robello, C. (Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.)
- Buscaglia, C. A. (IIBio (UNSAM-CONICET))
- Balouz, V. (IIBio (UNSAM-CONICET))

Tipificaciones moleculares permitieron delinear al menos 6 unidades discretas de tipificación (DTU), llamadas TcI a TcVI, dentro de *T. cruzi*, siendo TcI-TcIV linajes ancestrales y TcV y TcVI producto de hibridaciones recientes entre parentales TcII y TcIII. TSSA es una adhesina de la superficie del tripomastigote, polimórfica entre las DTU. Esto, sumado a su antigenicidad, hace de esta molécula el único marcador de serotipificación disponible. Hasta el momento se han descrito 4 isoformas de TSSA: TSSAI (TcI), TSSAII (TcII/V/VI), TSSAIII (TcIII/V/VI) y TSSAIV (TcIV), con aspectos antigénicos y funcionales diferenciales. Recientemente, en nuestros laboratorios obtuvimos genomas de alta calidad de secuencia y ensamblado de cepas pertenecientes a distintos DTU. Estos genomas, junto a otros de *T. cruzi* y kinetoplastidos relacionados disponibles en bases de datos, se analizaron aquí con el objetivo de caracterizar distintos parámetros (sintenia, dosaje génico, variabilidad) de TSSA. Identificamos nuevas isoformas de TSSA: 1 en *T. cruzi marinkellei*, 3 variantes de TSSAI y 1 variante de TSSAIV. Todas las DTU (y *T.c.marinkellei*) presentaron un único locus de TSSA por genoma haploide (t-TSSA) en el cual los genes se disponen río abajo de una zona de strand-switch convergente, y orientados cabeza-cola en tandems de hasta 15 copias, dependiendo de la cepa. En las DTU híbridas, hallamos un locus t-TSSA, un contig homólogo presentando 2 secuencias de Gp63 (2xGp63) en reemplazo de las TSSA y un segundo locus, no sinténico con el anterior, con una única copia de TSSAIII. El locus t-TSSA en TcIII y TcIV presenta una secuencia de Gp63 río abajo del tándem TSSA, lo cual explicaría la presencia de dos variantes para el mismo locus en las cepas híbridas y sugiere la ocurrencia de un rearrreglo genómico común a todas ellas. Estos hallazgos nos permitirán ampliar los estudios antigénicos y funcionales de TSSA, y generar mejores herramientas serodiagnósticas para la enfermedad de Chagas.

#55 - Copro-LAMP para la detección simultánea de *Toxocara canis* y *Toxocara cati* utilizando una estrategia de bajo costo

- Avila, Héctor Gabriel (Laboratorio Provincial de Zoonosis)
hectorgabrielavila@gmail.com
- Risso, Marikena Guadalupe (IMPam-UBA-CONICET)
- Ruybal, Paula (IMPam-UBA-CONICET)
- Repetto, Silvia Analía (IMPam-UBA-CONICET)
- Butti, Marcos Javier (Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias, UNLP, Argentina)
- Trangoni, Marcos David (INTA Castelar Argentina)
- Grune Loffler, Sylvia (INTA Castelar Argentina)
- Pérez, Verónica Mirtha (Ministerio de Salud Pública de San Juan, Argentina)
- Periago, María Victoria (Fundación Mundo Sano, CONICET, Argentina)

La toxocariosis (TC) es una parasitosis sistémica que puede presentarse asintomática o no, clínicamente se manifiesta como síndrome de larva migrante visceral, ocular, TC neurológica y TC encubierta. Los principales agentes etiológicos son *Toxocara canis* y *Toxocara cati*, nematodos cuyos estadios larvales adultos se alojan en el intestino de canes y felinos domésticos, respectivamente. Los huevos producidos son eliminados al ambiente a través de las heces de los hospedadores definitivos infectados, luego de un proceso de maduración evolucionan al estadio infectivo para el humano (huevo larvado). Por este motivo es importante contar con herramientas de diagnóstico que permitan detectar hospedadores y áreas infectadas. La microscopía óptica (MO) es ampliamente utilizada para la identificación de huevos de *Toxocara* spp., sin embargo, puede presentar baja sensibilidad cuando se la utiliza en estudios epidemiológicos empleando diferentes matrices. En este trabajo se realizó una reacción de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP-Tc) para la detección en simultáneo de *T. canis* y *T. cati*, con valores de sensibilidad en el orden de los femtogramos y especificidad del 100% frente a ADN de otros parásitos. Luego de realizada la puesta a punto, la técnica fue evaluada con heces de zonas endémicas para TC, las cuales fueron analizadas por MO, LAMP-Tc por estrategia convencional utilizando ADN obtenido con kit comercial y SYBR green I como revelador (EC) y LAMP-Tc empleando una estrategia de bajo costo (EBC) para la obtención de ADN y visualización de resultados. El 34% de las muestras fueron positivas por MO, mientras que por LAMP empleando EC y EBC el 74% de las muestras fueron positivas, por triplicado. Con la EBC se logró reducir un 80% el valor por determinación, comparado con la EC. De esta manera, se desarrolló una herramienta para la detección en simultáneo de *T. canis* y *T. cati*, sensible, específica y posible de realizar en laboratorios con equipamiento básico.

#97 - Evaluación de un multi-antígeno para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas congénita mediante la captura de IgM específica por ELISA

- Peverengo, Luz Maria (Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas UNL) luzpeverengo@gmail.com
- Rodeles, Luz María (Centro de Estudios en Salud Global (FCM – UNL)
- Maldonado, Camila (Laboratorio de Tecnología Inmunológica (FBCB-UNL)
- Ballering, Griselda (Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, IMIPP-CONICET)
- Pujato, Nazarena (Laboratorio de Leptospirosis (FBCB-UNL)
- D`Amico, Indira (Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, IMIPP-CONICET)
- Vicco, Miguel Hernán (Centro de Estudios en Salud Global (FCM – UNL)
- Garcia, Luciana (Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, IMIPP-CONICET)
- Jurado, Laura (Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, IMIPP-CONICET)
- Altcheh, Jaime (Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, IMIPP-CONICET)
- Marcipar, Iván (Laboratorio de Tecnología Inmunológica (FBCB-UNL)

La transmisión transplacentaria dada por la infección de *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) puede tratarse eficazmente si se administran medicamentos parasiticidas lo antes posible durante la infancia. En consecuencia, una situación ideal sería diagnosticar la infección cerca del nacimiento con el objetivo de evitar la pérdida de pacientes durante el seguimiento posterior, favoreciendo el potencial beneficio de los fármacos en etapas tempranas y, en consecuencia, contribuyendo a eliminar la transmisión maternoinfantil. Sin embargo, las técnicas disponibles para tal fin tienen limitaciones como ser dependientes del operador (microhematocrito), requerir varios meses de seguimiento (detección de IgG) o laboratorios especializados (PCR). En este estudio proponemos detectar anticuerpos (Ac) IgM específicos en recién nacidos mediante el desarrollo de un ELISA basado en captura ensayando distintos antígenos (Ag) para diagnosticar la transmisión transplacentaria de *T. cruzi*. En primer lugar, se obtuvo una proteína recombinante quimérica (CP4) a partir de la fusión de las proteínas CP1 y CP3 que contienen los Ags FRA, SAPA y MAP, TSSAII/V/VI y TcD de *T. cruzi* respectivamente. Luego, optimizamos el ensayo capturando los Ac IgM con un Ac anti-IgM policlonal y evaluamos tres formulaciones de Ag para detectar la unión de IgM específica. Las formulaciones fueron conformadas de la siguiente manera i) F1: por CP1 y CP3; ii) F2: por CP1, CP3, B13 y P2β; iii) F3: por CP4. La detección de la unión del Ag al Ac se llevó a cabo usando un Ac anti-His ya que todos los Ag se expresaron con una etiqueta de His. El panel de evaluación consistió en sueros de niños menores de 1 año infectados verticalmente (6 menores de 15 días, 7 mayores) y muestras de niños no infectados de mujeres con enfermedad de Chagas crónica. El ensayo ELISA que empleó CP4 mostró un mejor rendimiento con una sensibilidad y especificidad notablemente altas (92,3% y 93,9%, respectivamente).

#119 - Detección microscópica y molecular de esporas de microsporidios en muestras de heces humanas

- Mena, Cristian (Laboratorio de Parasitología y Micología experimental, Fac. de Cs Químicas-UNC. Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CiBiCi)-CONICET) menacristianjavier@gmail.com
- Barnes, Andres Alberto (Hospital Rawson)
- Guasconi, Lorena (FCQ-UNC. CIBICI-CONICET)
- Burstein, Verónica L. (FCQ-UNC. CIBICI-CONICET)
- Beccacece, Ignacio (FCQ-UNC. CIBICI-CONICET)
- Paulin, Patricia Catalina (Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan")
- Cervi, Laura (FCQ, UNC- CIBICI, CONICET)
- Chiapello, Laura (FCQ, UNC- CIBICI, CONICET)

Los microsporidios son microorganismos intracelulares obligados con una notable capacidad para infectar una amplia gama de hospedadores invertebrados y vertebrados. *Enterocytozoon bienewsi* es el microsporidio más frecuentemente reportado en todo el mundo, principalmente asociado con diarrea crónica y síndrome debilitante en pacientes con sida. Las técnicas de detección basadas en microscopía y PCR son útiles para el diagnóstico y la identificación de especies y genotipos, pero estos métodos deben estar estandarizados en cada laboratorio. En este estudio evaluamos técnicas de microscopía y PCR anidada, con secuenciación de los productos, para detectar *E. bienewsi* en muestras de heces humanas. Estas técnicas, usadas conjuntamente, podrían ser útiles para su aplicación en el diagnóstico de microsporidiosis intestinal y para realizar estudios epidemiológicos de esta afección en Argentina.

#99 – Métodos de ELISA y Western Blot para diagnóstico de toxocariosis humana en el NEA: validación de resultados mediante intercambio de con laboratorio de referencia

- Lopez, María de los Angeles (Universidad Nacional del Nordeste)
mangeleslopez17@gmail.com
- Santillán, Graciela (Instituto ANLIS - Malbrán)
- Acevedo, Guillermo Armando (Universidad Nacional del Nordeste)
- Medina, Marcelo Gabriel (Universidad Nacional del Nordeste)
- Formichelli, Laura (Universidad Nacional del Nordeste)
- Sosa, Sonia (Instituto ANLIS - Malbrán)
- Bojanich, María Viviana (Universidad Nacional del Nordeste)

La toxocariosis humana es una zoonosis causada por el nematode de los caninos *Toxocara canis*. El diagnóstico se realiza mediante la detección de anticuerpos específicos, por métodos serológicos. Objetivo: Comparar los resultados obtenidos con los métodos de ELISA y Western Blot (WB) para *T. canis* desarrollados con antígenos locales de Chaco y Corrientes, y los obtenidos por un Laboratorio de Referencia Nacional.

Se seleccionaron 61 muestras de suero de pacientes procedentes del Chaco, con sospecha clínica de toxocariosis. Los sueros fueron enviados para su estudio al Laboratorio de Parasitología del Instituto ANLIS-Malbrán, y se procesaron en paralelo en el Instituto de Medicina Regional (IMR) - UNNE. El IMR empleó un método de ELISA IgG a partir de antígeno de Excreción/Secreción de cepas autóctonas de *T. canis* obtenido mediante cultivo de larvas in vitro. Los resultados positivos ($DO \geq 0.300$) fueron confirmados por WB. El Laboratorio de Referencia empleó un método de ELISA IgG con valor de corte $DO \geq 0.260$, y confirmación con WB.

En el IMR, de 16 sueros positivos por ELISA, 10 fueron confirmados por WB. Mientras que en Malbrán, de 29 sueros que dieron ELISA positivo, 7 fueron confirmados por WB. Combinando ELISA y WB, en 58 muestras (95,0%) los resultados fueron concordantes para ambos laboratorios (7 positivos y 51 negativos). Hubo 3 sueros que resultaron positivos en IMR y negativos en Malbrán.

El método de ELISA del IMR utiliza un valor de corte más alto (menor sensibilidad) que el que emplea el laboratorio de Referencia, sin embargo, no se presentaron falsos negativos en este estudio. Hubo 3 resultados discordantes, positivos para IMR y negativos para Malbrán, lo cual puede deberse al empleo de antígenos autóctonos mejor reconocidos por sueros pertenecientes a la misma región. La concordancia global entre ambos centros fue del 95%, lo cual permite validar esta metodología de trabajo para el diagnóstico de toxocariosis humana, en la región NEA.

#104 – Estrongiloidiasis: una zoonosis negligenciada

- Gené, Cristina Mercedes (Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales, (CENPETROP. Fac.de Medicina, UNNE) cristinagene@hotmail.com)
- Rea, María Josefa Felisa (CENPETROP. Fac. de Medicina, UNNE. Corrientes)
- Fleitas, Adriana Inés (CENPETROP. Fac. de Medicina, UNNE. Corrientes)
- Borda, Carlos Edgardo (Centro Nacional de Parasitología. FMed, UNNE. Corrientes)

La estrongiloidiasis es una enfermedad parasitaria intestinal, causada por el nematodo *Strongyloides stercoralis*, cuyos hospederos son humanos, primates, perros y gatos. En personas inmunocompetentes puede ser asintomática, pero en inmunocomprometidos aumenta la autoinfección y el daño al organismo, produciendo hiperinfección y estrongiloidiasis diseminada con un cuadro de alta gravedad y mortalidad.

El objetivo del trabajo fue evaluar la frecuencia de la estrongiloidiasis en pacientes inmunocompetentes e inmunosuprimidos del CENPETROP durante 10 años (2010 a 2019).

Se examinaron 1.582 pacientes de ambos sexos y todas las edades con patologías de base como síndrome anémico, mieloma múltiple, leucemia linfocítica aguda, pénfigo vulgar, HIV, cáncer, linfoma Hodgkin, asma, alcoholismo, mal de Pott y enfermedades reumáticas, o por eosinofilia.

Se confeccionó un protocolo para colecta de heces. Técnicas: Hoffmann, Pons y Janer y Ritchie para las preservadas de seis días y con Baermann y Harada-Mori las frescas de un día. Graham para mucus anal. Coloración de Ziehl-Neelsen modificada.

Se diagnosticaron 639 individuos parasitados (40,39 %).

El nematode más frecuente fue *S. stercoralis*, con 145 portadores (49% varones y 51% mujeres) y valor relativo anual promedio de 23%. En 2014, 2016 y 2018 la infección alcanzó 35% y 36%.

Este valor aumentó en relación al 20% de la década anterior. Sin embargo uncinarias, también de transmisión transcutánea, disminuyó del 15% al 7%.

Otros helmintos hallados: *Ascaris lumbricoides* 3%, *Trichuris trichiura* 1%, *Enterobius vermicularis* 12%, *Tænia saginata* 4%, *T. solium* 0,15%, *Hymenolepis nana* 1%, *H. diminuta* 0,15%.

Ante patologías de base riesgosa o al iniciar terapias inmunosupresivas debe descartarse infección por *S. stercoralis*, utilizando métodos que tienen en cuenta la biología del parásito.

Este estudio resalta la importancia del diagnóstico temprano de esta parasitosis intestinal desatendida en los pacientes de riesgo.

#109 Case Report of Chagas Disease Reactivation: New Diagnosis Tool by Direct Microscopy Observation of Biopsy and its Preservation Fluid

- López Albizu, María Constanza (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben) constanzalopezalbizu@gmail.com
- Martín Pablo Bravo (División Infectología; Hospital Naval Dr. Pedro Mallo)
- Marisa Pico (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben)
- Marisa L. Fernandez (Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben)

Chagas Disease (CD) is a systemic disease caused by *Trypanosoma cruzi*. CD reactivation is associated with immunodeficiency disorders. In patients with AIDS, this reactivation has a high mortality rate. In 75-90% of patients it appears with neurological compromise, and in 30% of the cases with acute myocarditis.

Neurologic CD reactivation diagnosis is performed with the visualization of trypomastigotes in cerebrospinal fluid (CSF) or blood, or observation of amastigotes' nest in brain biopsies. qPCR for *T. cruzi* could be used in blood, CSF, or tissues, but, at the moment, this technique does not yield enough data to differentiate chronic and acute infections.

In this case, we report a 46 year old man, born in the Tucuman Province, Argentina, with diagnosis of HIV and CD who was evaluated due to hemiparesis. A cerebral mass was detected by neuroimaging. Lumbar puncture procedure to obtain CSF was contraindicated. A first parasitemia by Strout method was performed and the result was negative while qPCR *T. cruzi* in peripheral blood resulted detectable (14 parasite equivalents per milliliter (Eq Par/mL)). Eight days later, CD reactivation diagnosis was finally made with the visualization of trypomastigotes using both the Strout method and the direct microscopy of the brain biopsy and the pellet of post-centrifuged preservation fluid (PF). The brain biopsy and its PF qPCRs showed low Cts. Both Cts were under the minimum Ct obtained with 100.000 Eq Par/mL in distilled water curve.

Direct observation of brain biopsy and its PF can diagnose CD reactivation. The diagnosis could be made efficiently without any staining or other procedures, as we demonstrated both samples were positive with the visualization of motile trypomastigotes, qPCR was made in these samples and correlates a high burden parasitemia.

We propose to implement this easy and simple diagnosis method and qPCR to all tissue biopsies and biopsy or organs PF of *T. cruzi* seropositive patients. This could help for diagnosis or prediction of CD reactivation and may be as an organ donor CD transmission risk marker.

EPIDEMIOLOGÍA Y VECTORES

45 - Rol de las mucinas TcSMUGL de *Trypanosoma cruzi* en la infección del insecto vector

- Cámara, Milagros (IIB-INTECH-UNSAM) milagritos.camara@gmail.com
- Macchiaverna, Natalia Paula (Laboratorio de Eco-Epidemiología, FCEN-UBA)
- Gonzalez, Marcelo (IOC Rio de Janeiro Brasil)
- Camean Centeno, Camila (IIBIO-UNSAM-CONICET)
- Lobo, Maite Mabel (IIBIO-UNSAM-CONICET)
- Azambuja, Patricia (IOC Rio de Janeiro Brasil)
- Balouz, Virginia (IIBIO-UNSAM-CONICET)
- Burassi, Florencia (IIBIO-UNSAM-CONICET)
- Cardinal, Marta Victoria (Laboratorio de Eco-Epidemiología, FCEN-UBA)
- Buscaglia, Carlos Andres (IIBIO-UNSAM-CONICET)

La infección del triatomino por parte de *T. cruzi* es un proceso complejo que involucra proliferación, múltiples interacciones celulares y la adaptación del parásito a condiciones adversas impuestas por el tracto digestivo del propio vector y/o su microbiota. TcSMUGL es una familia de mucinas de *T. cruzi*, con expresión restringida a la membrana del epimastigote, el estadio replicativo en el insecto. Con el fin de realizar una caracterización funcional TcSMUGL generamos parásitos sobre-expresantes (TcSMUGLox) en cepas representativas de la diversidad de *T. cruzi* (CL Brener, RA, Y, Br, Dm28c) y evaluamos la dinámica de la infección en 2 especies de vectores de relevancia epidemiológica: *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans*. Las líneas TcSMUGLox presentaron una mayor infectividad (37%) y un mayor número de parásitos por vinchuca infectada que las líneas control (cepas parentales silvestres o sobre-expresando una mucina no relacionada de *T. cruzi*) evaluadas en paralelo. Más aún, parásitos Y TcSMUGLox fueron capaces de infectar *R. prolixus*, un vector muy restrictivo para el desarrollo de esta cepa. La distribución de estadios morfológicos en los insectos también se vio alterada en las líneas TcSMUGLox, observándose formas metacíclicas en ampolla rectal a tiempos más tempranos post-infección. Ensayos *in vitro* mostraron que la sobre-expresión de TcSMUGL en epimastigotes correlaciona con una mayor tasa de metaciclogénesis, y con una mayor resistencia a lisis frente a los contenidos estomacales, intestinales y rectales del insecto. Finalmente, las líneas TcSMUGL mostraron un 30 % más de adhesión *ex vivo* al epitelio intestinal del insecto, proceso clave para la colonización del tracto digestivo. Todos estos resultados indican que TcSMUGL es un determinante molecular para el desarrollo de *T. cruzi* en insectos vectores y que, por lo tanto, podría constituir un nuevo blanco de intervención contra este parásito.

#83 - Investigaciones de la fauna de flebótomos en área urbana endémica de Leishmaniasis en la ciudad de Corrientes

- Mierez, Mirta (Facultad de Medicina-UNNE) mirtamierez@yahoo.com
- Rea, María JF (Cátedra de Parasitología; CENPETROP, Facultad de Medicina, UNNE, Corrientes, Argentina)
- Borda, Edgardo C (CENPETROP, Facultad de Medicina, UNNE, Corrientes, Argentina)

Introducción: La Leishmaniosis Tegumentaria Americana (LTA) en humanos es endémica en la provincia de Corrientes. Situada en el Nordeste argentino, con clima subtropical húmedo posee condiciones ambientales favorables para diferentes especies de flebótomos. Los biotopos donde pueden encontrarse estos insectos varían de acuerdo a diversos factores, y su dinámica poblacional requiere un continuo estudio debido a su adaptación al ambiente urbano estrechamente ligado a la expansión de la enfermedad.

Objetivo: identificar la fauna flebotomínica en un peridomicilio urbano de la ciudad de Corrientes durante los meses de abril de 2019 a febrero de 2020.

Materiales y métodos: Se utilizaron trampas luminosas tipo CDC durante tres noches consecutivas, colocadas entre las 19h a las 7h, semanalmente en el período de abril de 2019 a febrero de 2020, en el peridomicilio de una estación de captura ubicada en un barrio de la ciudad de Corrientes. La identificación de especie se realizó según claves específicas.

Resultados: Se han realizado 97 capturas, totalizando 1164 horas de trabajo. Se capturaron 61 flebótomos. Se identificaron del género *Lutzomyia*, 54 ejemplares (machos: 25 y hembras: 29). Las especies identificadas hasta el momento fueron, *Lu. longipalpis*: 54 (98%) y *Nyssomyia neivai*: 1 (2%), ambos principales vectores de leishmaniosis visceral y leishmaniosis tegumentaria, respectivamente.

Conclusión y discusión: *Lu. longipalpis* se ha capturado con gran predominancia en el peridomicilio. La ocurrencia de más de una especie en un biotopo está sujeta a la adaptación, recursos disponibles y las interacciones competitivas interespecíficas. Este proceso puede explicar la mínima presencia de *Ny neivai* ante la abundancia de *Lu. longipalpis* en un municipio donde la LTA es endémica.

Posiblemente ambas especies usarán los mismos recursos y ocurre una competición entre ellas, este proceso estudiado por otros autores ha sido señalado para otras especies de *Lutzomyia*.

#67 - An overview of *Giardia* spp. in human, animal, and environmental settings of Argentina: Comprehensive analysis and geographical distribution of surveys reported in the last forty years

- Rivero, Maria Romina (IDAS-CONICET) rivero.maria@conicet.gov.ar
- Feliziani, Constanza (Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra, INIMEC-CONICET)
- De Angelo, Carlos (Instituto de Ciencias de la Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA-CONICET, UNRC))
- Tiranti, Karina (Departamento de Patología Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. UNRC)
- Salomon, Oscar Daniel (Instituto Nacional de Medicina Tropical, INMeT.)
- Touz, Maria Carolina (Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra, INIMEC-CONICET)

Giardia is a parasite distributed worldwide and one of the most ubiquitous protozoan in Argentina. This study is a comprehensive description of *Giardia*'s impact in Argentina based on studies published in the country from the past 40 years. We described *Giardia* prevalence in humans (from urban, rural and indigenous populations), animals (including domestic, farm and wild animals) and in environmental surveys (water and soil samples). This work was performed according to recommendations established by Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis guidelines. The analysis was conducted using the LILACS, PubMed, Scopus and Argentina SciELO databases employing as keywords, '*Giardia*' AND 'Argentina'. A manual review of papers was also carried out. Of 304 articles, 92 fitted the eligibility criteria. *Giardia* was reported in 15 of the 23 Argentine provinces. Prevalence, co-infections, genotypes and risk factors described in each setting were explored in the four decades. An interactive web map of the country was performed with the geographical distribution of all the selected studies. Furthermore, publication contributions per regions as well as per national research centers origin were analyzed. This report provides useful information on epidemiological aspects of giardiasis in the country and can help to understand the socio-environmental and contextual framework that contributes to *Giardia* persistence in several regions in Argentina. All the compiled information may help to define future research priorities and provides useful tools for professionals regarding actual information on the prevalence of this infection.

#123 - Transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi*: factores asociados al cumplimiento del protocolo diagnóstico. Estudio de una población del Hospital Público Materno Infantil (HPMI) de la capital de la provincia de Salta

- Poullain, Matias* (Grupo de Bioestadística Aplicada, FCEN-UBA) mpouillian@gmail.com
- Campos, Emiliano Emanuel* (Instituto de Patología Experimental (IPE), UNSa-CONICET, Salta) emilianoecampos@gmail.com
- Fernandez, Maria Soledad (Grupo de Bioestadística Aplicada, FCEN-UBA)
- Pérez, Adriana (Grupo de Bioestadística Aplicada, FCEN-UBA)
- Zago, Maria Paola (Instituto de Patología Experimental IPE-CONICET CCT Salta)

* Autoría compartida

El perfil epidemiológico de la enfermedad de Chagas se modificó gracias a programas de control vectorial y educativos, resignificando la transmisión congénita de *T. cruzi*. El diagnóstico oportuno es clave ya que el tratamiento precoz tiene alta probabilidad de éxito. Objetivos: a) estimar cumplimiento del algoritmo diagnóstico de Chagas congénito e identificar factores de riesgo; b) determinar grado de conocimiento materno de la enfermedad y factores asociados; c) estimar la tasa de transmisión congénita. Métodos: Evaluación retrospectiva (2016-2018) de HC de partos (n=347 RN) de madres seropositivas (n=320) para *T. cruzi* en HPMI. En 2019, se realizó una encuesta socioepidemiológica presencial a subpoblación de madres seropositivas (n=41 y 43 RN). Resultados: 26.8% (93/347, IC95: [22.4%;31.7%]) de los niños no inició el protocolo de diagnóstico y sólo 1.4% (5/347, IC95: [0.6%;3.4%]) fue diagnosticado previo al año de vida. Tanto el parto pretérmino como el bajo nivel socioeconómico de zona de residencia materna resultaron factores de riesgo para la falta de diagnóstico ($p < 0.05$). La encuesta evidenció que 82.9% (34/41) de las madres conocía que la infección se transmite verticalmente pero sólo 41.5% (17/41) sabía que la enfermedad es curable. El conocimiento materno se asoció positivamente a jefe/a de hogar ocupado/a, a edad materna al momento del parto y al retorno al centro de salud previo al año de vida ($p < 0.05$). Finalmente, la tasa de transmisión congénita de *T. cruzi* estimada fue 9.30% (4/43; IC95: [3.54%; 22.30%]). Conclusiones: Se evidenció déficit en el diagnóstico oportuno de una población en riesgo de contraer Chagas por vía congénita y falta de conocimiento materno de la enfermedad, ambos asociados a mayor vulnerabilidad socioeconómica. Estos resultados resaltan la importancia tanto de educar y documentar los casos como del estrecho seguimiento en centros de atención primaria como estrategia epidemiológica en pos de erradicar esta forma de la Enfermedad