

Libro de resúmenes

Sociedad Argentina de Protozoología

Autoridades

Presidente: Dr. Alejandro G. Schijman

Vicepresidente: Dra. Silvina Wilkowsky

Secretaria: Dra. Gabriela A. García

Prosecretaria: Dra. Karina A. Gómez

Tesorero: Dr. Guillermo Daniel Alonso

Protesorero: Dra. Silvia Fernández Villamil

Vocales Titulares: Dra. Silvia Longhi y Dr. Claudio Pereira

Vocal suplente: Dr. Juan Mucci y Dra. Alejandra Schoijet



UNIVERSIDAD NACIONAL
DEL LITORAL
SANTA FE ARGENTINA



XXVIII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología y Enfermedades Parasitarias

SIMPOSIO Internacional de Biología Celular y Molecular de la Enfermedad de Chagas

Noviembre 26, 27 y 28 de 2016 - Hotel UNL-ATE – Ciudad de Santa Fe

Comité Científico:

Pte. Dr. Sergio Guerrero

Colaboradores: Dr. Oscar Botasso, Dra. Ana Rosa Perez, Dr. Iván Marcipar, Dr. Diego Arias, Dr. Ivan Bontempi, Dra. Luz Rodeles, Dr Miguel Vicco

Comité Organizador:

Pte. Dr. Ivan Marcipar

Colaboradores: Dr. Iván Bontempi, Dr. Sergio González, Dr. Sergio Guerrero, Dr. Gabriel Cabrera, Dra. Diana Fabbro, Dr. Diego Mendicino.

Programa

Simposio Internacional de Biología Celular y Molecular de la Enfermedad de Chagas

Sábado 26(Sala P1)

10:00 Hs. Papel del sistema triparredoxina/triparredoxinaperoxidasa en la virulencia de *Trypanosoma cruzi*. Dra. María Dolores Piñeyro. Instituto Pasteur de Montevideo, UdeLaR.

10:40 Hs. Estudio del sistema de SUMOilación en tripanosomas. Dra. Vanina Alvarez, IIB-CONICET, Universidad Nacional de San Martín, Argentina.

11:20 Hs. Coffee Break.

11:40 Hs. Estudios genético-moleculares en Chagas congénito y aplicaciones diagnósticas. Dr. Alejandro Schijman, INGEBI-CONICET, Argentina.

12:20 Hs. El recambio epitelio como factor antiparasitario local de la placenta humana ante la infección con *Trypanosoma cruzi*. Dra. Ulrike Kemmerling, Universidad de Chile. Chile.

13:00 – 14:40

14:40 Hs. Nuevos actores en la regulación del ciclo celular de *Trypanosoma cruzi*. Dr. Guillermo Alonso, INGEBI-CONICET, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

15:20 Hs. mRNA export in mammals and parasites: are they using the same pathways? Dra. Andrea Ávila. Instituto Carlos Chagas, Curitiba, Brasil.

16:00 Hs. Interacciones RNA-proteína en la organización postranscripcional del transcriptoma de *Trypanosoma cruzi*. Dr. Javier De Gaudenzi, IIB-CONICET, Universidad Nacional de San Martín, Argentina.

16:40 Coffee Break

17:00 Hs. La vía BER (Base Excision Repair) en la reparación del DNA de *Trypanosoma cruzi*. Dr. Norbel Galanti. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Chile.

17:40 Hs. Hacia el estudio de la especificidad de las células T CD4+ de memoria de pacientes con Enfermedad de Chagas crónico. Dra. Karina Gómez, INGEBI-CONICET, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

18:20 Hs. Exploración de una estrategia inmunomoduladora segura para el control de la enfermedad de Chagas. Dr. Ivan Marcipar. CONICET, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.

20:00 Hs Cocktail de bienvenida

Domingo 27(Sala P1)

09:00 Hs. Tripanosomas africanos en América. Dr. Fernando Gustavo Álvarez Valín, Universidad de la República, Uruguay.

09:40 Hs. Origin is the new black: dynamic of DNA replication in *Trypanosoma cruzi*. Dra. María Carolina Elías. Instituto Butantan, San Paulo, Brasil.

10:20 Hs. Resistencia a benzimidazole en *Trypanosoma cruzi*: un evento multigenico. Dr. Omar Triana, Universidad de Antioquia, Colombia.

11:00 Hs. Coffee Break

11:20 Hs. Reprogramación de células humanas frente a la infección por *Trypanosoma cruzi*. Dr. Carlos Alberto Robello Porto, Instituto Pasteur, UdeLaR, Montevideo, Uruguay.

12:00 Hs. Metabolismo de aminoácidos y bioenergética en *Trypanosoma cruzi*. Dr. Ariel Silber, Universidad de Sao Paulo, Brasil.

ALMUERZO Y ACREDITACIÓN A LA REUNIÓN DE LA SAP 2016

CO 1 Diagnóstico y Tratamiento (Sala P1) 14:30 – 15:30

Dra. Marcela S. Rial: Tratamiento con nanopartículas de benznidazol en la infección experimental murina por *Trypanosoma cruzi* Nicaragua.

Dra. Agata Carolina Cevey: Benznidazol a bajas dosis y fenofibrato restauran parámetros inflamatorios y de la función cardíaca en un modelo crónico de Chagas experimental.

Dra. Rocío Rivero: Nueva herramienta de amplificación isotérmica (lamp) para el diagnóstico rápido de la infección congénita por *Trypanosoma cruzi*.

Dra. Gisela C. Muscia: Actividad biológica sobre *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania* spp de derivados sintéticos de 2-fenilquinolinas

MR 1 Diagnóstico de Enfermedades Parasitarias (Sala P1) 15:30 – 17:30

Dr. Rubén Cimino: Epidemiología y diagnóstico de la infección por *Strongyloides stercoralis* en el norte de Salta.

Dra. Liliana Carral: Diagnóstico de Toxoplasmosis. Experiencia en el Hospital Alemán de Buenos Aires.

Dr. Raúl Costamagna: *Acanthamoeba* spp.: biología, patologías en el hombre y diagnóstico de Laboratorio.

Dra. Silvia Repetto: Enfoque multidisciplinario de la estrogiloidosis fuera de área endémica.

CO 2 Epidemiología y Vectores (Sala P13) 14:30 – 15:30

Dr. Sixto Raúl Costamagna: *Acanthamoeba* spp. en agua para consumo ganadero en la Provincia de la Pampa, Argentina.

Dra. Ana Laura Carbajal de la Fuente: Presencia de *Triatoma infestans* y su asociación con factores socio-bio-ecológicos en un área rural de la provincia de Mendoza, Argentina.

Dra. María J.F. Rea: Brotes epidémicos de leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) en la provincia de corrientes.

Dra. Cristina Almazán: Tipificación molecular de flebotomos de un área endémica de leishmaniasis tegumentaria en la provincia de Salta, mediante pcr-rflp del gen arnr 18s.

MR 2 Epidemiología y tratamiento de Enf. de Chagas (Sala P13) 15:30 – 17:30

Dra. Nora Goren: Baja dosis de benznidazol promueve la eliminación de parásitos y atenúa La reacción inflamatoria en un modelo de Chagas experimental.

Dra. Nilda Prado: TRAENA. Tratamiento con benznidazol en pacientes adultos con enfermedad de Chagas crónica de bajo riesgo. Un ensayo clínico aleatorizado en Fase 3. (Registro: clinicaltrials.gov. NCT02386358)

Dra. Diana Fabbro: Efecto del tratamiento anti-*Trypanosoma cruzi* en la prevención de Chagas congénito.

Dra. Karenina Scollo: Pruebas rápidas para la Enfermedad de Chagas.

COFFE BREAK 17:30 – 18:00

PRESENTACIÓN DE POSTERS 1: 18:00 – 19:30

CONFERENCIA INAUGURAL (C1) 19:30 – 20:30

DNA Damage Response in Trypanosomatids: to repair or to die?

Dr. Carlos Renato Machado

Lunes 28

CO 3 Bioquímica y Biología Molecular 1 (Sala P1) 8:30 – 9:30

Dra. Romina Nievas: Palmitoilación de proteínas en *Trichomonas vaginalis*.

Dr. Sebastián Balerini: Disrupción del gen *h2az* de *Toxoplasma gondii* mediante el sistema crispr/cas9.

Dr. Matías Romero Victorica: Cromosomas artificiales como plataforma para la expresión del sistema crispr/cas9 en *Trypanosoma cruzi*.

Dr. Santiago Radío: Caracterización de regiones no traducidas en familias proteicas que presentan diferencias en la eficiencia traduccional en *T. cruzi*.

CO 4 Inmunología y Patogenia 1 (Sala P13) 8:30 – 9:30

Dr. Gonzalo Acevedo: Predicción bioinformática y validación de nuevos epitopes de *T. cruzi* reconocidos por linfocitos t de pacientes con enfermedad de chagas crónica.

Dra. Melisa D. Castro Eiro: Evaluación de la respuesta celular y humoral frente al tratamiento completo e incompleto con benznidazol en pacientes con enfermedad de chagas crónico.

Dra. Evangelina Benizi: Infección por *Trypanosoma cruzi* en placentas humanas in vitro ex vivo induce la producción de mif, mmp-9 y tnfa.

Dra. Florencia B. Gonzalez: Alteraciones en el perfil metabólico y los niveles de adipoquinas y sus receptores en individuos con enfermedad de Chagas crónica.

CONFERENCIA (C2) 9:30 - 10:30

Interacción hospedero-parásito en la placenta humana: Respuesta diferencial ante *Trypanosoma cruzi* y *Toxoplasma gondii*

Dra. Ulrike Kemmerling

Coffe Break 10:30 – 11:00

MR3 Bioquímica y Biología Molecular (Sala P1) 11:00 – 13:00

Dr. Antonio Uttaro: Strategies for sterols (or surrogates) acquisition in protists.

Dra. Carolina Touz: Mecanismos moleculares de tráfico de proteínas en *Giardia lamblia*.

Dr. Arias Diego: Caracterización funcional de sistemas redox dependientes de tioles y metaloproteínas en *Entamoeba histolytica*.

Dr. Alejandra Cecilia Schojjet: Estrés nutricional y tráfico intracelular en tripanosomátidos.

MR4 Inmunomodulación e Inmunometabolismo (Sala P13) 11:00 – 13:00

Dra. Ana Rosa Perez: Regulación neuro-inmuno-endocrina y metabólica en la infección causada por *Trypanosoma cruzi*.

Dr. Iván Bontempi: Análisis del efecto inmunomodulador del Bacilo Calmette Guerin en la infección por *Trypanosoma cruzi* y su potencial uso para el diseño de vacunas que controlen la enfermedad de Chagas.

Dr. Emilio Malchiodi: Vacunas contra la enfermedad de Chagas: Generar una respuesta inmune potente, o diferente?

Dra. Roxana Cano: Disfunción inmune y metabólica en un modelo de obesidad inducido por dieta: Rol clave del *Trypanosoma cruzi* en la progresión a diabetes y polarización de macrófagos en tejido adiposo.

ALMUERZO/ASAMBLEA 13:00 – 14:30

CO 5 Bioquímica y Biol. Molecular 2 (Sala P1) 14:30 - 15:30

Dr. Emir Sarduy: Identification of new cruzipain inhibitory scaffolds from the Glaxosmithkline HAT and Chagas chemical boxes.

Dra. Mariana Strauss: Distribución tisular de linajes de *T. cruzi* luego de distintos tratamientos tripanocidas durante la etapa aguda de la infección experimental.

Dr. Richard M B M Girard: Role of alanine racemase in trypanosoma and antiparasitic effect of new class of alanine racemase inhibitors.

Dra. Victoria L Alonso: Identificación de compuestos inhibidores de bromodominios de *Trypanosoma cruzi* a partir de productos naturales modificados.

MR5 Caracterización Blancos Moleculares y Búsqueda de Nuevos Agentes Tripanocidas (Sala P1) 15:30 – 17:30

Dr. Alan Talevi: Búsqueda in silico de nuevos fármacos tripanocidas.

Dra. Cricco Julia: El transporte de hemo como posible blanco para la inhibición de la replicación de *T. cruzi*. ¿Podemos diseñar una estrategia que permita bloquear eficientemente el transporte de hemo?

Dr. Claudio Pereira: Dando los primeros pasos en las técnicas de "Virtual Screening" para el reposicionamiento de drogas con actividad tripanocida.

Dr. Ernesto Gulin: Screening de drogas reposicionables con actividad anti-*Trypanosoma cruzi* en modelos in vitro e in vivo.

CO 6 Inmunología (Sala P13) 14:30 – 15:30

Dra. Silvina Villar: Infección por *Trypanosoma cruzi*: rol de las citocinas pro-inflamatorias en la síntesis de esteroides adrenales en un modelo de infección experimental.

Dra. Cecilia Perez Brandan: Shift in the humoral response elicited by *Trypanosoma cruzi* attenuated parasites when coadministered with a plasmid encoding murine ifn-gamma.

Dr. Edwin F Sánchez López: Evaluación de las hsp90 de plantas como adyuvante de antígenos vacunales contra *Toxoplasma gondii*.

Dra. Luz Rodeles: Alteraciones metabólicas en enfermedad de Chagas crónica: perfil de insulinoresistencia y autoanticuerpos β 2 adrenérgicos.

MR 6 Inmunología (Sala P13) 15:30 – 17:30

Dra. Pamela Cribb: *High Mobility Group B* de *Trypanosoma cruzi* (TcHMGB): en la intersección entre PAMPs y DAMPs

Dra. Laura Cervi: PD-L2 regula negativamente la inmunopatología mediada por la respuesta Th1 en la infección con Fasciola hepática.

Dra. Susana Laucella: Regulación de la respuesta celular T a través de la vía de señalización de STAT en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.

Dra. Cecilia Parodi: Perfil de diferenciación de las células T en distintas formas clínicas de Leishmaniasis Tegumentaria Americana.

COFFE BREAK 17:30 – 18:00

PRESENTACIÓN DE POSTER 2: 18:00 – 19:30

CONFERENCIA DE CIERRE (C3) (Sala P1) 19:30 – 20:30

Avances en el estudio del proceso asexual replicativo y la diferenciación en *Toxoplasma gondii*

Dr. Sergio Angel

ENTREGA DE PREMIOS 20:30 – 21:00

Sabado 26/11		Domingo 27/11		Lunes 28/11	
	SALA P1	SALA P1	SALA P13	SALA P1	SALA P13
8.00-19.00 hs	Acreditación	8.00-19.00 hs	Acreditación	8.00-18.30 hs	Acreditación
10.00 -10.40 hs	María Dolores Piñeyro	9.00-9.40 hs	Fernando Gustavo Álvarez Vallín	8.30-9.30 hs	Comunicaciones orales
		9.40 – 10.20 hs	María Carolina Elías		CO3
10.40 – 11.20 hs	Vanina Alvarez	10.20 – 11.00 hs	Omar Triana	9.30-10.30 hs	Conferencia (C2) Ulrike Kemmerling
11.20-11.40 hs	Café	11.00-11.20 hs	Café	10.30-11.00 hs	Café
11.40 – 12.20 hs	Alejandro Schijman	11.20-12.00 hs	Carlos Alberto Robello Porto		Mesa redonda
12.20 – 13.00	Ulrike Kemmerling	12.00 – 12.40 hs	Ariel Silber	11.00-13.00 hs	Bioquímica y Biología Molecular Inmunomodulación e Inmunometabolismo
13.00-14.30 hs	Almuerzo	13.00-14.30 hs	Almuerzo y Acreditación	13.00-14.30 hs	Almuerzo - Asamblea Anual SAP
14.40-15.20 hs	Guillermo Alonso	14.30-15.30 hs	Comunicaciones orales	14.30-15.30 hs	Comunicaciones orales
			CO1		CO5
15.20-16.00 hs	Andrea Ávila		Mesa redonda		Mesa redonda
16.00 – 16.40 hs	Javier De Gaudenzi	15.30-17.30 hs	Diagnóstico de Enfermedades Parasitarias	15.30-17.30 hs	Caracterización Blancos Moleculares y Búsqueda de Agentes Tripanocidas
16.40-17.00 hs	Café	17.30-18.00 hs	Café	17.30-18.00 hs	Café
17.00-17.40 hs	Norbel Galanti	18.00-19.30 hs	Posters	18.00-19.30 hs	Posters
17.40-18.20 hs	Karina Gómez		Conferencia Inaugural (C1) Carlos Renato Machado	19.30-20.30 hs	Conferencia Cierre (C3) Segio Angel
18.20 – 19.00 hs	Ivan Marcipar	19.30-20.30 hs		20.30-21.00 hs	Entrega de premios
20:00 - 21:00 hs	Cocktail de Bienvenida				

SUMARIO

Conferencias (C1 a C6)	10
Mesas Redondas (MR)	
MR 1: Diagnóstico de Enfermedades Parasitarias	12
MR 2: Epidemiología y tratamiento de Enfermedad de Chagas	14
MR3: Bioquímica y Biología Molecular	18
MR4: Inmunomodulación e Inmunometabolismo	20
MR5: Caracterización Blancos Moleculares y Búsqueda de Nuevos Agentes Tripanocidas	23
MR 6: Inmunología	25
Posters y Comunicaciones orales	
Sección: Bioquímica y Biología Molecular	29
Sección: Diagnóstico y Tratamiento	65
Sección: Epidemiología y Vectores	90
Sección: Inmunología y Patogenia	103
índice de Posters	121

CONFERENCIAS

Conferencia inaugural (C1): Dr. Carlos Renato Machado

DNA Damage Response in Trypanosomatids: to repair or to die?

Departamento de Bioquímica e Inmunología, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Brazil.

Studying trypanosomatid DNA Damage response (DDR) aims to better comprehend the evolution of this biological process in nature as well as to potentially identify important mechanisms involved in the disease development caused by these organisms and new therapeutic targets. DDR mechanisms include multiple DNA repair pathways, damage tolerance processes, and cell-cycle checkpoints that safeguard genomic integrity. DDR is responsible for detecting lesions and direct the cells to different DNA repair pathways, to senescence, or to a signalled death. The genome of Trypanosomatids revealed that the most of the genes involved in DDR are present and these organisms are able to respond to most of genotoxic agents. Our group have already shown that the DDR present unique features in *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania*. *Leishmania major* is more able to respond to lesions that cause DNA replication blockage than *T. cruzi* cells. On the other hand, *T. cruzi* cells are more resistant to double strand break when compared with *Leishmania major*. Another important point about DDR in *T. cruzi* cells is related with whether the DNA lesion interferes in the RNA transcription process or in DNA replication. Lesions that blocked transcription could lead cells to a very fast signalled death. This death is not due to DNA lesions, once it could be inhibited with ATM and ATR inhibitors (proteins involved in early steps of DDR). If this signalled death is avoided, cells are able to repair the DNA and return to normal growth. Lesions that block replication do not lead to a faster signalled death, but they are directed to a senescence process. We hypothesize that the senescence process could be related to the quiescence that occurs with *T. cruzi* in the human host, since this organism is able to live in human beings for more than 40 years without long replication cycles. Therefore, the DDR in trypanosomatids have special adaptations associated with unique features of their biology and their interaction with their vertebrate hosts. **Financial Support: CNPq, CAPES, FAPEMIG, Newton-Fund, FAPESP.**

Conferencia (C2): Dra. Ulrike Kemmerling

Interacción hospedero-parásito en la placenta humana: Respuesta diferencial ante *Trypanosoma cruzi* y *Toxoplasma gondii*

Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile

Congenital transmission of the zoonotic parasites, *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) and *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), is a relevant public health problem. Congenital transmission of *T. cruzi* is partially responsible for its progressive globalization. *T. gondii* is estimated to infect over one billion people worldwide. Although the majority of infected healthy individuals have no symptoms, in immunocompromised or congenitally infected individuals, the parasite can cause severe disease or even death. Congenital transmission of pathogens is the consequence of complex interactions among the parasite, maternal and fetal/newborn immune responses, and placental factors, with the placenta the least-studied component of this "trilogy". Interestingly, the congenital transmission rate for *T. cruzi* is low ($\approx 1-12\%$) in contrast to the transmission rate for *T. gondii*, which is high ($\approx 22-72\%$). To reach the fetus both parasites have to cross the placental barrier. Therefore, the placenta might play an important role avoiding or permitting parasite infection. The placental barrier in the human villous placenta is formed by the trophoblast, which contacts the maternal blood, beneath the trophoblast a basal lamina and an underlying villous stroma (VS) or connective tissue are present, which includes vascular endothelium, fibroblastic cells and macrophages. The trophoblast,

as lining epithelia, forms an anatomical barrier. Epithelial turnover is considered part of the innate immune system because pathogens must attach to the surface of these cells prior to cell invasion. The trophoblast is composed of two cellular layers: the superficial syncytiotrophoblast (STB) and the basal proliferative cytotrophoblast (CTB). The epithelial turnover of the trophoblast implies a precise orchestration of various cellular processes including CTB cell proliferation, differentiation (syncytial fusion through incorporation of CTB cells into a non-replicative STB), and cell death. *T. cruzi* induces an increase in trophoblast turnover by analyzing cell proliferation, differentiation and apoptotic death. Our results strongly suggest that placental epithelial turnover is a local placental defense mechanism. Contrarily, *T. gondii* induces a more severe histopathological damage in the placenta, particularly in the trophoblast than *T. cruzi*, therefore it is able to break down this tissue and, consequently, the placental barrier. The trophoblast expresses all of the mammalian Toll like receptors (TLRs) identified in human. TLRs are Pathogen Pattern Recognition Receptors, which recognize and bind to highly conserved sequences, known as pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). *T. cruzi* and *T. gondii* are recognized by TLR-2, TLR-4, TLR-7 and TLR-9. Activation of TLRs leads to expression and secretion of immune-modulating cytokines and chemokines. Here we studied in *ex vivo* infected human chorionic villi explants whether *T. cruzi* and *T. gondii* induce a differential TLR and cytokine profile and if receptor inhibition is related to parasite infection. Our results show that *T. cruzi* infection is related to TLR-2 expression and activation contrarily to *T. gondii*, whose infection is mediated by TLR-4 and TLR-9. Additionally, *T. cruzi*, but not *T. gondii*, elicits an increase in TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-10 cytokine secretion. On the other hand, only *T. gondii* increases the secretion of IL-8. We conclude, that the differences in tissue damage as well as the differential activation of TLRs in the trophoblast might partially explain the high (*T. gondii*) and low (*T. cruzi*) transmission rates. **Acknowledgements:** ERANET-LAC grant ELAC2014/HID-0328 and ENL027/16 (UCh).

Conferencia de cierre (C3): Dr. Sergio Angel

Avances en el estudio del proceso asexual replicativo y la diferenciación en *Toxoplasma gondii*.
IIB-INTECH, CONICET/UNSAM

Toxoplasma gondii es un parásito apicomplejo intracelular obligado, que produce la toxoplasmosis, afectando principalmente a pacientes inmunodeprimidos y a recién nacidos. En el humano el parásito presenta dos estadios, el taquizoito, responsable de la etapa aguda y de los síntomas, si los hubiere, y el bradizoito, que puede permanecer latente dentro de los tejidos por muchos años. El estadio de taquizoito está caracterizado por el ciclo lítico que incluye la invasión a la célula hospedera, replicación a una tasa de un evento cada 5-7 horas, lisis y egreso de la célula hospedera. La diferenciación de taquizoitos a bradizoitos es un proceso que va acompañado de la expresión y silenciamiento de una gran variedad de genes. La modulación del estado de la cromatina es un factor esencial en la regulación de todos los procesos de expresión génica, replicación del ADN y reparación al daño de ADN. Las unidades básicas de la cromatina son los nucleosomas, conformado por dos copias de cada una de las cuatro familias de histonas H3, H4, H2A y H2B. En *T. gondii* existen las 4 histonas canónicas y las formas variantes H3.3, H2A.Z y H2A.X. También se identificó una variante para H2B denominada H2B.Z, la cual conforma junto a H2A.Z un nucleosoma variante que se localiza en regiones del genoma diferentes a las del nucleosoma H2A.X/H2B. A su vez, se han identificado componentes de la maquinaria modificadora y remodeladora de la cromatina como así también una gran variedad de modificaciones postraduccionales en las histonas del parásito. Además de las diferentes acetilaciones y metilaciones de lisinas que pueden estar asociadas a la modulación de la expresión génica y otros procesos biológicos, la histona H2A.X conserva la fosforilación en el motivo C-terminal SQE, asociado a reparación de ADN por rotura de doble cadena. Esta marca aparece aún en condiciones normales de crecimiento del taquizoito sugiriendo un posible estrés replicativo del ADN en ese estadio, el cual pondría en funcionamiento el sistema de reparación por recombinación homóloga. Todos estos procesos se ven afectados por drogas como resveratrol, camptotecina y KU55933 deviniendo en importantes fuentes de nuevos blancos terapéuticos. En ese sentido se destaca la participación en estos procesos biológicos de moléculas conservadas pero que poseen estructuras diferenciales respecto de sus contrapartes humanas como también de componentes únicos del parásito, los cuales facilitarían el diseño de drogas específicas.

MESAS REDONDAS

MR 1 Diagnóstico de Enfermedades Parasitarias

(Sala P1) Moderadores: Dr. Diego Mendicino/Dr. Sergio Guerrero

***Acanthamoeba*, un Protozoo sub-diagnosticado e ignorado**

Costamagna, Sixto Raúl; Gertiser, Laura; Visciarelli, Elena; Lucchi, Leandro; Basabe, Norma; Randazzo, Viviana y Rojas, María. Cátedra de Parasitología Clínica, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670, 8000 – BAHIA BLANCA, Argentina. E-mail: rcostama2001@yahoo.com.ar

Acanthamoeba spp., pertenece a un grupo de protozoos anfitrónicos denominados “amebas de vida libre”. Están en el ambiente y, salvo algunas especies, no están adaptadas al parasitismo. A partir de mediados del siglo pasado se la consideró un patógeno para el hombre. El tiempo, evidencias, investigaciones y mejores diagnósticos, muestran un presente con aumento en el número de casos de acanthamoebosis. Algunas especies pueden comportarse como parásitos provocando encefalitis granulomatosa amebiana (EGA), sinusitis, lesiones cutáneas, y queratitis, lesión dolorosa de tratamiento prolongado que, si no se diagnostica y medica rápido, requiere trasplante de córnea. En este contexto consideramos necesario difundir nuestra experiencia sobre este microorganismo. Además de su rol patogénico, puede actuar como vector de virus o bacterias nocivos para el hombre y otros animales. El aislamiento de *Acanthamoeba* spp. se realiza en placas con agar no nutritivo, enriquecido con *Escherichia coli*. Se visualizan fácilmente, tanto trofozoítos como quistes, en fresco o coloreados con May Grünwald-Giemsa o Calcoflúor. La confirmación de género se realiza por PCR, utilizando cebadores JDP1/JDP2. En Argentina aislamos *Acanthamoeba* de: agua de red, ríos, arroyos, aguadas, piscinas, suelo y biopsias de córnea humanas. Presente en el 30% de aguas cloradas, 90% en aguas naturales y confirmadas por PCR. También fue aislada de filtros de aires acondicionados y soluciones de limpieza de lentes de contacto, siendo ésta una importante fuente de infección para el hombre, por inadecuada conservación y limpieza de las lentes. Además, los tiempos que indicaban los fabricantes, fueron insuficientes para evitar el crecimiento del protozoo. De 18 genotipos existentes, en aguadas aislamos T4, T5 y T15. En nuestros estudios, *Acanthamoeba* mostró tolerancia a condiciones climáticas extremas, resistencia a desinfectantes de laboratorios, y capacidad patogénica, siendo aisladas de casos de queratitis. El quiste fue muy resistente al cloro: para obtener efecto amebicida se necesitaron concentraciones de 60 partes por millón. El etanol al 25%, para la desinfección de superficies, demostró acción acanthamoebicida a partir de los cinco minutos de contacto. Probamos con éxito el test de inmunofluorescencia, directa (IFD) e indirecta (IFI), con anticuerpos policlonales obtenidos en nuestro laboratorio. La IFD fue importante para confirmar diagnósticos, mientras que la IFI tuvo escaso valor porque la mayoría de los seres humanos poseen anticuerpos contra este protozoo, debido a la gran distribución ambiental. Es importante acortar el tiempo para el diagnóstico, por la rápida evolución de la EGA que termina con la vida del paciente o con pérdida de la córnea, en casos de queratitis. Mayores estudios y diagnósticos oportunos, permitirán una evaluación del rol de este protozoo en el ambiente y mejorarán los pronósticos en pacientes.

Epidemiología y diagnóstico de la infección por *Strongyloides stercoralis* en el norte de Salta.

Ruben Cimino. Universidad Nacional de Salta. rcimino@unsa.edu.ar

La Organización Mundial de la Salud (OMS) denomina a las “Enfermedades Tropicales Desatendidas” a un conjunto de patologías que causan enfermedad y obstaculizan el desarrollo económico en las poblaciones pobres o en desarrollo. Encontramos dentro de este grupo a las geohelmintiasis, Enfermedad de Chagas, leishmaniasis, rabia, dengue y lepra, entre otros. Las parasitosis intestinales transmitidas por el suelo o geohelmintiasis, ocasionadas por nematodos, son consideradas mundialmente un problema importante de salud pública. La estrongiloidiasis humana es causada por el parásito *S. stercoralis*. Se estima que en el mundo existen entre 30-100 millones de personas infectadas, afectando entre el 10%-40% de la población de los países tropicales y subtropicales. En Argentina se estima que hay 1 millón de personas infectadas, pero aun así esto puede estar subestimado. Las prevalencias reportadas varían desde 0,2% al 83%, siendo las provincias de Misiones y Salta donde se registraron las mayores prevalencias. El diagnóstico de la estrongiloidiasis se basa principalmente en la

detección de la larva filariforme (L3) mediante la examinación al microscopio de materia fecal. En la actualidad el método Baerman y cultivo de agar son los métodos recomendados para el diagnóstico. La examinación directa de materia fecal y Harada-Mori son otros métodos parasitológicos disponibles con menor sensibilidad que los mencionados anteriormente. Varios métodos inmunoenzimáticos se han descrito para el diagnóstico de la infección como ELISA, western blot, inmunofluorescence y LIPS (Luciferase Immunoprecipitation System). Estos ensayos han mostrado una variabilidad de especificidad y sensibilidad, dependiendo del tipo de antígeno utilizado (extracto crudo o antígeno recombinante, NIE) como así también de la población estudiada. La técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) ha sido desarrollada y usada para la detección de ADN de *S. stercoralis* y otros helmintos en materia fecal. La evaluación de la PCR convencional y real time PCR ha reportado una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de *S. stercoralis*. En el Instituto de Investigaciones de Enfermedades Tropicales de la Universidad Nacional de Salta, Sede regional de Orán se desarrollan estudios de microscopía, serológicos y de biología molecular en geohelmintiasis con particular énfasis en *S. stercoralis*. El antígeno recombinante NIE de *S. stercoralis* es una alternativa para el diagnóstico de la infección, nuestros estudios preliminares utilizando este antígeno mediante la técnica de ELISA sugiere que es una herramienta para estudios epidemiológicos. La PCR cuantitativa representa una opción interesante, ya que además del diagnóstico de la infección de *S. stercoralis* se puede aplicar para otras parasitosis.

Diagnóstico de Toxoplasmosis. Experiencia en el Hospital Alemán de Buenos Aires.

Liliana Carral, F. Kaufer, M Messina, V. Schneider. Centro de Toxoplasmosis del Hospital Alemán de Buenos Aires

Toxoplasma gondii (*Tg*) es un protozooario intracelular de la familia Apicomplexa, clase esporozoa. Se estima que más del 25 % de la población humana está infectada. La patogenidad de la infección depende de la ruta y masividad, la susceptibilidad del huésped y la virulencia de la cepa. Existen 3 cepas principales, tipo I, II y III. La tipo II es común en Europa y las I, III y genotipos atípicos son frecuentes en Sudamérica.¹ Los huéspedes definitivos del parásito son los felinos donde ocurre el ciclo enteroepitelial y los esporoquistes eliminados contaminan pasturas, vegetales, agua, suelo y son fuente de infección para los huéspedes intermediarios (ovinos, caprinos, bovinos, hombre, etc) donde *Tg* forma quistes tisulares. La infección es subclínica o asintomática en el paciente inmunocompetente. La toxoplasmosis congénita, en el paciente inmunocomprometido, la retinocoroiditis y el diagnóstico diferencial de las linfadenitis requieren de un diagnóstico rápido y preciso para instaurar el tratamiento adecuado. *Diagnóstico en la embarazada y recién nacido.* El Consenso Argentino para la Prevención de la Toxoplasmosis Congénita elaboró algoritmos diagnósticos y de tratamiento para la embarazada y el recién nacido que se utilizan actualmente². Se realiza tamizaje serológico a la gestante con IgG e IgM y ante sospecha de primoinfección se amplía el estudio en laboratorios especializados con una determinación de Sabin Feldman o IFIG, IgM, IgA e IgE y prueba de avidéz. En el recién nacido se determinan IgG, IgM, IgA e IgE. El niño será considerado libre de infección cuando las IgG desaparezcan. La persistencia de IgG al año confirma la infección prenatal³. *Toxoplasmosis ocular:* El diagnóstico se basa en observaciones oftalmológicas y la serología. Ésta será de una infección aguda si la coriorretinitis se manifiesta en una primoinfección pero en las reactivaciones refleja una infección crónica⁴. *Pacientes inmunocomprometidos:* El diagnóstico se basa en la clínica, estudios complementarios y la serología. En los trasplantes es importante en los receptores negativos de un órgano proveniente de un dador positivo.

1- Sauer A, de la Torre A, Gomez-Marin J, Bourcier T, et al. Prevention of retinochoroiditis in congenital toxoplasmosis: Europe versus South America. *Pediatr Infect Dis J.* 2011; 30(7):601-3.

2- Durlach R, Kaufer F, Carral L, Freuler C et al. Argentine Consensus of Congenital Toxoplasmosis. *Medicina (B Aires).*2008; 68(1):75-87.

3- Olariu TR, Remington JS, McLeod R, et al. Severe congenital toxoplasmosis in the United States: clinical and serologic findings in untreated infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2011; 30(12):1056-61

4- Garweg JG, de Groot-Mijnes, JD, Montoya JG. Diagnostic approach to ocular toxoplasmosis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2011; 19(4):255-61.

Enfoque multidisciplinario de la estrongiloidosis fuera de área endémica.

Repetto S, Alba Soto C, Ruybal P, Arguello L, Batalla E, González Capa SM. Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), UBA-CONICET, Facultad de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. E-mail: silvia_repetto@yahoo.com.ar.

S. stercoralis es un geohelminto endémico en nuestro país sin embargo no es detectado fuera de área endémica. El ciclo de autoinfección con la consecuente infección crónica y la eliminación fluctuante de

larvas en materia fecal (mf) reducen la sensibilidad de los métodos habituales. Así, en los inmunocomprometidos, esto el subdiagnóstico conduce a las infecciones severas. Para optimizar el diagnóstico estandarizamos una PCR convencional (cPCR) que detecta 0,2 larvas/g mf. Se realizó un estudio ciego, descriptivo, de cohorte transversal con 237 pacientes asignados diferentes grupos según antecedentes de área endémica sin riesgo de reinfección exógena, inmunocompromiso y eosinofilia. Se realizó parasitológico seriado (Ritchie) y examen microscópico fresco, PCR y cultivo de agar nutritivo (CAN) en una muestra de materia fecal fresca. *S. stercoralis* fue detectado en 71 de los 237 participantes. De los 71 pacientes, 15 fueron diagnosticados por observación de larvas en fresco de mf, y en 17 por el método de Ritchie. El CAN fue positivo en 35 pacientes y en dos de ellos fueron requeridas 4 muestras para confirmar el diagnóstico mediante este método. La cPCR fue positiva en la primera muestra estudiada los 71 pacientes. En 36 de los 71 pacientes la infección sólo fue diagnosticada por PCR. La sensibilidad y la especificidad fueron de 100% y de 84,81%. El VPN y el VPP fueron de 100% y de 49,3%. La eosinofilia asintomática fue la forma clínica más frecuente. Posteriormente se incrementó en un 12% la detección de la parasitosis con la aplicación de la qPCR con un detección fue 0,001 larva/g mf. Cuarenta y dos pacientes presentaron la forma clínica asintomática. La eosinofilia, el área endémica y el uso de corticoides se identificaron como factores independientes de probabilidad de infección. No se encontraron casos de infecciones severas en pacientes con infección por VIH. Diez pacientes realizaron el seguimiento post- tratamiento con ivermectina durante tres años. Se les realizó estudios parasitológicos convencionales, cPCR y qPCR. Tres pacientes reactivaron con larvas en el CAN en las muestras estudiadas luego del primer año post tratamiento. La cPCR persistió positiva en todos los pacientes en las muestras estudiadas en los diferentes tiempos. La qPCR detectó ADN en 8/10 pacientes post-tratamiento. Sin embargo, uno de estos pacientes presentaba larvas en el CAN. Los resultados obtenidos hasta el momento demuestran que la PCR es una herramienta útil para el diagnóstico precoz de *S. stercoralis* y el tratamiento actual con ivermectina es insuficiente para lograr la erradicación parasitaria.

MR 2 Epidemiología y tratamiento de Enfermedad de Chagas

(Sala P13) Moderadores: Dr. Marcelo Nepote/ Bqca. Laura Bisai

Baja dosis de benznidazol promueve la eliminación de parásitos y atenúa la reacción inflamatoria en un modelo de chagas experimental

Ágata Carolina Cevey, Gerardo Ariel Mirkin, Federico Nicolás Penas, Nora Beatriz Goren. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM - UBA, CONICET).

La enfermedad de Chagas, cuyo agente etiológico es el protozoario *Trypanosoma cruzi* (*Tc*), es la principal causa de miocardiopatía dilatada en América. El corazón es un blanco importante para la infección por *T. cruzi*, produciendo notables niveles mediadores inflamatorios. Esta respuesta inflamatoria desencadenada por la infección puede conducir a importantes daños tisulares. Dada la carencia de Nifurtimox en nuestro país, el único fármaco antiparasitario disponible actualmente es el Benznidazol (Bz). Tanto uno como otro presentan efectos adversos de variada severidad en muchos pacientes, que pueden llevar al abandono del tratamiento. Dado que la mayoría de estos efectos están relacionados con la dosis, evaluamos, en dos modelos experimentales, la eficacia de Bz en términos de actividad parasitocida y antiinflamatoria, usando dosis más bajas que las comunicadas por diversos grupos con anterioridad. Para ello, infectamos ratones BALB/c con la cepa letal RA de *Tc*, que fueron luego tratados con distintas dosis de Bz. Analizamos la parasitemia, mortalidad y el cambio en el peso. La carga parasitaria, la presencia de infiltrados y de mediadores inflamatorios fueron evaluados en el corazón. Observamos que el tratamiento *in vivo* con 25 mg/Kg/día de Bz torna negativos los parámetros parasitológicos, reduce significativamente la expresión de ARNm de IL-1 β , IL-6 y NOS2 en corazón y devuelve la actividad sérica de Creatina Kinasa a niveles normales. Además, en los ratones infectados y tratados con dicha dosis no observamos mortalidad ni cambio en el peso. Las propiedades antiinflamatorias del Bz independientes de la infección, fueron estudiadas en un modelo *in vitro* de miocardiocitos estimulados con LPS. La expresión de mediadores inflamatorios disminuye en cultivos primarios de miocardiocitos como resultado del tratamiento con 15 μ M Bz. Dicha reducción es mediada a través de la inhibición de la vía de NF- κ B, evidenciado por la desaparición citosólica del inhibidor I κ B alfa

y de la subunidad p65 de NFκB. Nuestros resultados demuestran que una dosis de Bz más baja que las reportadas previamente para el tratamiento de la enfermedad de Chagas experimental, ejerce efectos antiparasitarios y antiinflamatorios, logrando la erradicación de los parásitos y la resolución de la inflamación tisular. Estos hallazgos pueden ser relevantes con vistas a la reevaluación de la dosis actualmente empleada para el tratamiento de la enfermedad de Chagas humana, con objeto de reducir los efectos adversos del Benznidazol.

TRAENA. Tratamiento con benznidazol en pacientes adultos con enfermedad de Chagas crónica de bajo riesgo. Un ensayo clínico aleatorizado en Fase 3. (Registro: clinicaltrials.gov. NCT02386358)

Nilda G Prado¹, Adelina R Riarte¹, Ana María De Rissio¹, Elsa B Velázquez¹, Juan Carlos Ramírez², Yolanda Hernández Vázquez¹, Gonzalo Tomás¹, Stella Maris López¹, Marisa Fernández¹, Miriam Martín García³, Mónica I Esteva¹, Angel J Sinagra¹, Concepción A. Luna¹, Lucía Hernández⁴, Marta Quaglino⁴, Alejandro G Schijman², Andrés M Ruiz¹. ¹INP Fatala Chaben-ANLIS MALBRAN. ²INGEBI CONICET. ³Programa Nacional de Chagas. ⁴Universidad Nacional de Rosario. Santa Fe. Argentina. ariarte@yahoo.com

Introducción. La situación actual del tratamiento en la enfermedad de Chagas (ECh) crónica se fue modificando gradualmente en los últimos 20 años. En los 90's dos ensayos clínicos aleatorizados (ECAs) en niños y un estudio observacional en adultos demostraron efecto parasiticida por acción del benznidazol (BZN) Con ese marco, TRAENA, el primer ECA que se realizó en pacientes adultos con ECh crónica, se inicia en 1999 con el objeto de evaluar si el BZN (® Radanil Lab. Roche) a la dosis de 5mg/kg/d durante 60 días era capaz de inhibir la progresión clínica de pacientes adultos con ECh crónica de bajo riesgo, y si nuevos métodos serológicos y parasitológicos podían ser predictores de ese potencial efecto clínico. Material y Métodos. TRAENA es un ECA controlado, doble ciego de BZN vs Placebo (PL). La población seleccionada correspondió a pacientes urbanos con ECh crónica residentes en la Ciudad de Buenos Aires y Gran Buenos Aires, la mayoría de los cuales habían nacido en área endémica de Argentina, Bolivia y Paraguay. Para ingresar al estudio los pacientes debían ser reactivos por IFI y ELISA y la población se caracterizó por presentar una distribución natural de los diferentes estadios de la ECh crónica. El monitoreo post tratamiento médico, serológico y parasitológico se realizó cada 4 meses hasta los 2 años, cada 6 meses hasta los 4 años y después anual hasta el final del estudio. Los pacientes se aleatorizaron por un sistema de números aleatorios restrictivo, en bloques de tamaño variable, estratificados por estadio clínico. El tamaño de la muestra se determinó con un N=750 con un poder del 80% que detecte un 50% de reducción en la incidencia de eventos clínicos en el brazo BZN asumiendo una incidencia de 20 % en el brazo PL manteniendo un nivel α del 5%. Se consideraron puntos finales clínicos primarios y secundarios; y secundarios serológicos analizados por Elisa convencional (ELISAc) y ELISA F29, un antígeno recombinante de *T. cruzi*, y parasitológicos por PCR en tiempo real (qPCR). Se estimaron modelos longitudinales mixtos para ajustar los perfiles de ELISAc, ELISA F29 e IFI según grupo de tratamiento buscando un efecto significativo entre grupos BZN y PL sobre la velocidad promedio en la disminución de los títulos. La qPCR se midió en equivalentes parasitarios /ml y por la distribución asimétrica de los datos se analizaron por el test de Mann Whitney. Los puntos finales clínicos primarios fueron mortalidad total, mortalidad cardiovascular, desarrollo de insuficiencia cardíaca (IC), arritmias severas con compromiso hemodinámico o implante de marcapaso definitivo o cardiodesfibrilador Los puntos finales clínicos secundarios fueron eventos secundarios electrocardiográficos caracterizados por la presencia de nuevos cambios en el ECG diferentes a los del tiempo inicial; agrandamiento del VI en el ecocardiograma, nuevo desarrollo de IC y ACV. Y eventos combinados: cuando dos o más alteraciones ecocardiográficas y electrocardiográficas eran de aparición simultánea. La progresión en el estadio clínico fue otra forma de medir los eventos secundarios y se consideraron todas las alteraciones descriptas previamente, excepto la mortalidad, que permitieran definir evolución clínica. Se realizaron análisis por ITTM y PP, en este último análisis en aquellos pacientes con una continuidad total hasta el periodo 2009-2012. A lo largo del estudio TRAENA tuvo una supervisión internacional, y tres AI y el AF evaluados todos ellos por un CM externo. TRAENA finalizó en diciembre de 2012. Resultados: Los pacientes se incluyeron entre marzo 1999-noviembre 2003. La aleatorización distribuyó 763 pacientes, 382 y 381 en BZN y PL. Por ITTM se analizaron 711 sujetos distribuidos en 353 y 358 sujetos en BZN y PL, y por PP un total de 552 pacientes, correspondiendo 272 y 280 en BZN y PL respectivamente. La distribución según estadio clínico fue de 74,7% en estadio indeterminado, 22,1% en estadio 1 y 3,1% en estadio 2 y 3 de la ECh crónica. La pérdida total de pacientes en forma absoluta fue de 4.8%, 19 y 18 en BZN y PL. No hubo diferencias en las variables basales como edad, sexo, procedencia, estadio clínico, etc. Eventos clínicos: Ciento dieciséis

eventos totales (15.2%) ocurrieron en TRAENA, 58 por cada brazo. De los 38 eventos primarios, 26 (3.4%) fueron mortalidad por todas las causas, 14 y 12 en BZN y PL respectivamente. De estos 26 solo 13 fueron atribuibles a la ECh, correspondiendo 7 (2.0%) y 6 (1.7%) a BZN y PL. Otros eventos primarios, 12 en total fueron marcapaso/ cardiodesfibrilador, arritmia con descompensación hemodinámica y falla cardíaca distribuidos 3 y 9 eventos en BZN y PL. Los puntos finales secundarios fueron 78 (10.2%). De ellos 41 (10.7%) y 37 (9.7%) correspondieron a BZN y PL. Los mismos se caracterizaron por desarrollo de nuevos y permanentes cambios electrocardiográficos, 17 eventos combinados, 10 y 7 en BZN y PL, y 4 ACVs todos en el brazo BZN. Las curvas de supervivencia de Kaplan Meyer comparando eventos primarios [P= 0.317. HR (Mantel-Haenszel):0.957. 95% IC: 0.497-1.840], secundarios [P= 0.618. HR: 0.864. 95% IC: 0.501-1.490] o progresión en el estadio clínico [P= 0.808. HR: 0.950. 95% IC: 0,631-1,431] según BZN y PL de acuerdo a análisis por ITTM y PP, no mostraron diferencias entre ambos brazos. *Eventos serológicos. En el grupo BZN, 29.1% (96/330) de los pacientes fueron seronegativos por ELISAc de los cuales 15.4% (51/330) lo fueron también por ELISA F29. La negativización total en BZN por ELISA F29 fue de 39.9% (126/337). En el grupo PL: 12,2 % (42/344) se negativizaron por ELISAc, de los cuales 4,4% (15/344) fueron seronegativos por ambas ELISAs, mientras que 10,7% (36/337) lo fueron por ELISA F29. La IFI se asoció a la negativización por ambas ELISAs con una disminución significativa de los títulos durante el seguimiento. (Los valores mostraron alta significación estadística) Eventos parasitológicos. En el grupo BZN, la carga parasitaria, en el tiempo 0, a los 60 d post-tratamiento (pt) y a los 12-14 meses pt tuvo una mediana de 6.59 (IC95% 5.11-10.5) eq. parasi/ml, 4.10 (IC95% 0.10 -7.15) y 0.00** (IC95% 0.00 -0.00) respectivamente con una P= 0.032 entre T0 y 60 d pt y una P<0.0001 entre T0 vs 12-14 meses pt siendo las mediciones estables en los tiempos posteriores respecto de esta última, hasta el final de TRAENA. En el grupo PL, la variabilidad de las qPCRs a lo largo del seguimiento es significativa con algún valor ocasional de qPCR no detectable, diferente del perfil del brazo BZN. LA seguridad en TRAENA. El BZN produjo la exclusión de 22% de los pacientes. Las causas fueron reiteración de la dermatopatía al reiniciar el tratamiento, hepatitis tóxica, leucopenia y menos frecuentemente artralgias. Solo 1 paciente requirió internación por un evento adverso serio. Conclusión. En TRAENA, en general una población de bajo riesgo clínico el BZN en el esquema utilizado no tuvo impacto clínico sobre la morbimortalidad. Los eventos primarios y secundarios fueron escasos, (y en frecuencia menor a la estimada en el diseño del estudio), distribuidos en forma homogénea en ambos brazos y en general tardíos a lo largo del seguimiento. Un claro efecto parasiticida en relación al BZN se observó por ambas ELISAs las que se negativizaron hacia los 5 años de seguimiento, siendo más relevante la detectada por ELISAF29. La IFI acompañó la seronegativización por ELISAs mediante una disminución significativa de los títulos. Los pacientes que seronegativizaron por la acción del BZN, como aquellos del grupo PL que lo hicieron en forma espontánea, presentaron títulos basales significativamente menores que aquellos que mantuvieron títulos positivos a lo largo del seguimiento. El franco efecto parasiticida por serología y qPCR en el brazo BZN no se asoció a diferente evolución clínica. El muestro estadístico realizado en el diseño del estudio en el año 1998, y basado en los estudios publicados en esa década sobre tratamiento etiológico en pacientes adultos con enfermedad de Chagas, y con el régimen de administración del BZN utilizado, no pareció ser suficiente para demostrar el efecto clínico estimado originalmente en TRAENA, un ensayo clínico aleatorizado, durante su periodo de seguimiento 1999-2012. *.Solo se muestran los datos estadísticos por ITTM. **.Valores 0,00 de qPCR equivale a equivalente parasitario no detectable.

Abreviaturas: AI: análisis interinos. AF: análisis final. CM: Comité de Monitoreo. ACV: accidente cerebrovascular. IFI: inmunofluorescencia indirecta. ITTM: Análisis por Intención de tratamiento modificada. PP: análisis por protocolo.

Efecto del tratamiento anti-*Trypanosoma cruzi* en la prevención de Chagas congénito.

*Diana L Fabbro*¹, *Emmaría Danes*², *Veronica Olivera*¹, *Maria Olenka Codebó*³, *Susana Denner*¹, *Cecilia Heredia*², *Mirtha Streiger*¹, *Sergio Sosa-Estani*²⁻³. ¹Centro Nacional sobre Endemias Nacionales (CIEN), Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. ²Centro de Diagnóstico e Investigación de Endemo-epidemias (CeNDIE), ANLIS Malbrán, Buenos Aires, Argentina. ³Instituto Nacional de Parasitología (INP), "Dr Mario Fatała Chaben", ANLIS Malbrán, Buenos Aires, Argentina.

Las políticas sanitarias aplicadas en la región para controlar las vías vectoriales y transfusional de la infección por *Trypanosoma cruzi*, han sido exitosas. Actualmente la vía transplacentaria es la forma más

frecuente de infección con *Trypanosoma cruzi* y es responsable de su urbanización y difusión hacia regiones no endémicas. La infección congénita puede ocurrir en cualquier etapa de la infección materna, en sucesivos embarazos y de una generación a otra. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar si el tratamiento tripanocida administrado en niñas o mujeres jóvenes infectadas interrumpía la transmisión congénita del parásito. Mediante un estudio multi-céntrico, observacional de cohorte de madres infectadas con *Trypanosoma cruzi*, sin y con tratamiento etiológico antes del embarazo, se estudiaron sus hijos para detectar infección congénita. A partir de historias clínicas de madres infectadas proveniente de los centros participantes, se confeccionó una base de datos con información parasitológica, serológica, clínica y epidemiológica de la madre y de sus hijos. La unidad de análisis lo constituyó el registro clínico del binomio “madre con infección chagásica crónica-hijo biológico”. Se estudiaron 354 binomios: 222 procedentes de mujeres no tratadas y 132 de madres tratadas. Se confirmó infección por *Trypanosoma cruzi* en 45 hijos de mujeres infectadas no tratadas (20,3%). En 34 de ellos (15,3%) el único antecedente era la serología materna positiva: 5 niños se diagnosticaron por visualización del parásito (xenodiagnóstico o strout antes del año) y el resto por serología reactiva después de los 10 meses de vida, con un promedio de edad al momento del diagnóstico de 5,8 años. En los otros 11 niños infectados no hay certeza de que la vía de transmisión haya sido congénita porque habían vivido en regiones con probabilidad de infectarse por vía vectorial. La edad promedio de diagnóstico de estos niños fue de 12,4 años. De los 132 hijos nacidos de mujeres que habían recibido tratamiento previo al embarazo ninguno tuvo infección por *Trypanosoma cruzi*. Cinco de ellos provenían de 2 madres con tratamiento incompleto. El diagnóstico fue realizado a la edad promedio de 4,8 años. El riesgo de transmisión transplacentaria en las madres no tratadas fue 25 veces mayor respecto a aquéllas que recibieron tratamiento antes del embarazo. La estimación puntual del riesgo relativo fue 0,04, IC_{95%}: 0,012-0,166. Estos resultados evidencian el beneficio de administrar tratamiento tripanocida en niñas o mujeres jóvenes infectadas. Desde el punto de vista sanitario tendría un fuerte impacto en la disminución o desaparición de nuevos casos de Chagas congénito que ocurren tanto en áreas rurales como en centros urbanos de cualquier lugar del mundo.

Pruebas rápidas utilizadas en el tamizaje de la Enfermedad de Chagas

Karenina Scollo, Constanza Lopez Albizu, Daniela Oliveto, Laura Mansilla. Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatała Chabén”

Introducción: El tamizaje para la Enfermedad de Chagas en la actualidad se realiza mediante la recolección de la muestra en papel de filtro (Holguín et al. 2013). En Argentina, se cuenta con un equipo de recolección y conservación de antígenos y anticuerpos en sangre entera (SEROKIT®, Yanovsky J., 1994) que consiste en extraer sangre del pulpejo del dedo y colocar, mediante un capilar, la sangre en un vial que contiene un conservante de muestra permitiendo su almacenamiento por un tiempo prolongado. En ambos casos, luego de la obtención de la muestra se procede a realizar el análisis mediante dos pruebas serológicas definidas (ELISA, HAI, IFI, ECLIA). Si una o dos de estas pruebas dan reactivas se procede a la extracción por punción venosa y su confirmación serológica. Hoy existe una fuerte necesidad de contar con una herramienta que facilite disponer de resultados en lo posible inmediatos, tales como a mujeres en sala de parto que llegan sin control prenatal, o realizar estudios poblacionales en áreas que son remotas y de difícil acceso con el objetivo de implementar estrategias que permitan realizar el control y la prevención de la enfermedad. Las pruebas rápidas ofrecen una excelente opción para el análisis en lugares de limitados recursos: son precisos, no requieren mantenerse bajo refrigeración, proporcionan resultados rápidos, son fáciles de usar e interpretar, y pueden potencialmente ser fabricados a bajo costo. Estas pruebas han sido evaluadas en varios estudios con el fin de conocer su rendimiento (Luquetti A.O. y col, 2003; Ponce C., Ponce E. y col, 2005; Sosa Estani S. y col, 2008; Roddy P. y col, 2008; Mendicino D. y col, 2014). **Metodología:** En un estudio llevado a cabo por el Grupo Técnico III “Enfermedad de Chagas” de MSF/OMS en el año 2010 se ensayaron 11 pruebas rápidas con sueros reactivos y no reactivos provenientes de una seroteca de laboratorios de referencia de países endémicos y no endémicos para la infección por *T. cruzi*. Como resultado de ese ensayo se vio que solo 7 pruebas rápidas de las 11 presentaron buen rendimiento con un índice K mayor al 0,80. No se encontraron diferencias significativas en el análisis del rendimiento de estas pruebas según el área donde se utilizaron (Sánchez-Camargo CL y col, 2014). **Discusión:** En este contexto se recomienda evaluar el costo/beneficio de estas pruebas con respecto a las herramientas actuales utilizadas en el tamizaje de la Enfermedad de Chagas. En Argentina se plantean los siguientes escenarios potenciales del uso de las mismas como ser; en protocolos de control de infecciones en sala de parto de mujeres con Control Prenatal insuficiente y en el tamizaje de infección en población rural dispersa permitiendo de esta manera una mejora en el acceso al tratamiento oportuno.

MR3 Bioquímica y Biología Molecular

(Sala P1) Moderadores: Dr. Esteban Serra/Dr. Sergio Guerrero

Strategies for sterols (or surrogates) acquisition in protists

Antonio D. Uttaro IBR-CONICET and FCByF, UNR, Rosario, Argentina. uttaro@ibr-conicet.gov.ar

Sterols are the hallmark of eukaryotic cells, being essential for several physiological processes. They play a key role in regulating membrane fluidity and permeability and participate in different signaling pathways as precursors of steroid hormones and vitamins. Sterols are also fundamentals in the formation of lipid rafts, involved in concerted functions such as cell-cell recognition, adhesion, communication and phagocytosis. Several strategies were selected in Nature for sterol acquisition, with *denovo* synthesis being present in numerous organisms like mammals, fungi, protozoa and plants. However, the synthesis of sterols is energetically expensive and oxygen dependent. It makes anaerobic parasites absolutely dependent of cholesterol uptake from their host. Anaerobic non-parasitic protozoa and some derived extant aerobic ones adapted to synthesize triterpenoids in one step, by direct cyclization of the squalene, without need of oxygen. It is the case of tetrahymanol in *Tetrahymena* ciliates, a surrogate of cholesterol with similar structural functions. Other ciliates like *Paramecium*, are absolutely dependent of phytosterols taken from their phagocytosed diet. Interestingly, *Tetrahymena* are also able to take up sterols from the media, which modify by dealkylation and desaturations, and incorporate to their membranes. Additionally, sterols represent an environmental signal which is sensed by *Tetrahymena* and transduced for the complete repression of tetrahymanol synthesis and induction of the enzymes involved in sterol bioconversion. Helminths and insects are also auxotrophic for sterols, which are precursors for the synthesis of essential hormones in these organisms. Trypanosomatids synthesize *denovo* ergosterol, which has sparking functions even in the mammalian stages, although the host cholesterol is avidly incorporated by the parasites, with concomitant reduction of ergosterol biosynthesis. The aim of this conference is to describe our contribution in the understanding of sterol bioconversion and tetrahymanol repression in *Tetrahymena thermophila*. In addition, I will describe a novel strategy for sterols acquisition detected in *Capsaspora owczarzaki*, a symbiont of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (the invertebrate vector of *Schistosoma* sp.). This filasterean protozoa shows features that resemble both fungi and animals, having the capacity for the synthesis of 7-dehydrocholesterol or ergosterol along its life cycle.

Mecanismos moleculares de tráfico de proteínas durante el enquistamiento en *Giardia lamblia*

María C. Touz y Nahuel Zamponi. Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra, INIMEC – CONICET – UNC, Friuli 2434, Córdoba, Argentina. Email: ctouz@immf.uncor.edu

Los programas de diferenciación celular que resultan en la formación de un estadio refractario o de resistencia, constituyen una estrategia común en organismos de vida libre y parásitos en respuesta a ambientes cambiantes o poco favorables. Un ejemplo de este tipo de mecanismos lo constituye el enquistamiento de *Giardia lamblia*, en el cual la forma móvil del parásito, el trofozoíto, cambia a una forma de resistencia e infecciosa, el quiste, capaz de sobrevivir bajo condiciones adversas y de colonizar nuevos hospedadores. Durante el enquistamiento, el sistema de endomembranas de *Giardia* se remodela y se generan vesículas secretorias o ESVs, que transportan el material que formará la pared del quiste. Si bien está bastante establecido que el RE está involucrado en los procesos de transporte de proteínas en el parásito, los mecanismos específicos mediante los cuales el RE “reemplaza” las funciones de un aparato de Golgi típico son desconocidos. Durante el desarrollo de este trabajo, encontramos que las ESVs se originan a partir de membranas del RE con características de ERES y de red Trans del Golgi, como así también por las membranas del RE aledañas a la membrana nuclear. Observamos además que, a diferencia de lo que ocurre en otras células eucariotas, el receptor de KDEL responsable del reciclado de proteínas solubles residentes del RE, funciona reteniendo a las proteínas del RE desde la membrana de dicha organela, evitando que sean empaquetadas en las vesículas secretorias. Estos resultados demuestran que el RE es la plataforma desde la cual tienen lugar los procesos de selección, empaquetamiento y transporte de membranas y proteínas en este parásito.

Caracterización funcional de sistemas redox dependientes de tioles y metaloproteínas en *Entamoeba histolytica*.

Diego G. Arias. Laboratorio de enzimología molecular – IAL-CONICET. darias@fcb.unl.edu.ar.

Entamoeba histolytica es un organismo microaerófilo, siendo el agente causal de la amebiasis. En *E. histolytica* diversos genes fueron adquiridos por eventos de transferencia horizontal desde procariotas. Muchas de las proteínas transferidas están implicadas en rutas del metabolismo central y reemplazaron funcionalmente a las encontradas en eucariotas clásicos. Si bien se ha avanzado en el entendimiento en la caracterización funcional de diferentes actores metabólicos, no se ha alcanzado una comprensión profunda de las interacciones metabólicas en las que participan y su importancia para la supervivencia durante el proceso de infección. Es por ello que el objetivo general de nuestra línea de trabajo es contribuir a la caracterización de los componentes enzimáticos que forman sistemas redox involucrados en la regulación de diferentes vías metabólicas en este patógeno. Experimentalmente, nos centramos en el estudio de enzimas redox de dos tipos, las dependientes de tioles (como las tiorredoxina) y las dependientes de metaloproteínas redox, las cuales aparecen no solo ser importantes para la homeostasis redox sino también importantes en el metabolismo energético de este organismo. En nuestra propuesta realizamos la caracterización bioquímica y fisiológica de proteínas redox de *E. histolytica*, tales como las tiorredoxinas (proteínas que participan en intercambios tiol-disulfuro en polipéptidos), así como las dependientes de ferredoxinas y proteínas relacionadas a rubredoxinas (ambos tipos de proteínas participan en intercambio de electrones en diferentes vías metabólicas siguiendo una química bioinorgánica). La determinación de los mecanismos bioquímicos que involucra a posibles redes de interacciones metabólicas en las que participan varios de los actores moleculares caracterizados, serían de importancia para contribuir al entendimiento de cómo este organismo, que presenta una gran "adaptabilidad" biológica debido en parte a sus particularidades metabólicas, puede afrontar diversas condiciones fisiológicas (como el estrés oxidativo y nitrosativo) durante el proceso de infección de un hospedero. La integración de los resultados obtenidos permite postular un escenario más completo del metabolismo redox de este patógeno y así contribuir a un mayor conocimiento de su biología y bioquímica.

Nutritional stress and intracellular traffic in Trypanosomatids

Schoijet, Alejandra C.; Sternlieb Tamara.; Alonso Guillermo D. INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina. E-mail: aschoijet@gmail.com

Autophagy is a self-degradative process that is important for balancing sources of energy at critical times in development and in response to nutrient stress. This is highly conserved across a taxonomically diverse range of eukaryotes including parasitic protists belonging to the family Trypanosomatidae; however, few proteins implicated in this process have been characterized so far in these parasites. Moreover, it has been shown that autophagy is involved in *Trypanosoma cruzi* differentiation and thus might have a role in pathogenicity. The phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) Vps34 is a protein that plays an important role in many processes such as vesicular traffic, endocytosis and autophagy. This protein is found in yeast and mammalian forming a complex with the kinase Vps15. This kinase is postulated to be necessary for Vps34 activity, but the role of this protein is not well elucidated. Previously in our laboratory, we have identified the first PI3K in *T. cruzi*, named TcVps34, which plays a role in vital processes for the parasite survival such as osmoregulation, vesicular acidification, and vesicular traffic. In this work we report the cloning and characterization of both TcVps15 in *T. cruzi* and TbVps15 in *T. brucei*. We demonstrated on one side that TcVps15 is involved in autophagy in *T. cruzi* by co-localization studies with the autophagosome marker TcAtg8 and by using the autofluorescence drug monodansylcadaverine (MDC). In addition, we found that TcVps15-K219D (a catalytic domain mutant version of TcVps15) - overexpressing parasites, showed reduced protein kinase activity when compared with the overexpression of the wild type protein, are less efficient modulating the lipid kinase activity of TcVps34 and displayed lower autophagy levels than those observed when wild type TcVps15 is overexpressed. Regarding TbVps15, the orthologue in *T. brucei*, we demonstrated that the knockdown of this gene in procyclic parasites produces a severe growth defect, with a block of cytokinesis, accompanied by a variety of morphological abnormalities. Moreover, cells induced with tetracycline also showed a significant reduction of transport of Concanavalin A to the lysosome. Overall, our results reveal for the first time a role of TcVps15 in autophagy in *T. cruzi* whereas initially we demonstrated that TbVps15 has a role in intracellular traffic in *T. brucei*.

MR4 Inmunomodulación e Inmunometabolismo

(Sala P13) Moderadores: Dr. Iván Marcipar/ Dr. Gabriel Cabrera

Regulación neuro-inmuno-endocrina y metabólica en la infección causada por *Trypanosoma cruzi*.

Ana Rosa Pérez - Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER CONICET-UNR).

El sistema inmune (SI), el sistema nervioso simpático (SNS) y el eje hipotalámico-pituitario adrenal (HPA) actúan de forma conjunta durante el desarrollo de una respuesta defensiva y su desregulación se ha asociado a la patogénesis de varias enfermedades autoinmunes, inflamatorias e incluso infecciosas. La interrelación entre estos sistemas implica diversas moléculas tales como citocinas, hormonas, mediadores neuronales y factores de transcripción. Recientemente, la descripción del eje hipotálamo-pituitario-tejido adiposo (TA) y el descubrimiento de la leptina y la adiponectina, adipocitocinas producidas por los adipocitos, ha revelado que el estatus metabólico puede influir en los mecanismos de defensa del huésped. La interacción entre todos estos sistemas durante el curso de una infección parasitaria no ha sido prácticamente evaluada. En el caso particular de la infección causada por *T. cruzi*, hemos demostrado previamente que los niveles de corticosterona están marcadamente elevados durante el curso de la infección aguda en ratones y que este incremento es protector ya que actúa fundamentalmente restringiendo la producción de citocinas pro-inflamatorias, a la vez que afecta distintas poblaciones de linfocitos T (Inmaduros, efectores y T reguladores). Asimismo, el SNS también interviene en la modulación del curso de la infección chagásica experimental, a través de la restricción de la producción de citocinas inflamatorias, sin afectar el nivel de producción de anticuerpos. Más recientemente, hemos observado que los animales infectados desarrollan hipoglicemia, lipólisis y una reducción en los niveles de leptina tanto sistémicos como en tejido adiposo en forma paralela a una disminución de la expresión de su receptor (ObR) en el hipotálamo. Los niveles de adiponectina y PPAR- γ también disminuyen en TA durante el curso de la infección y el tratamiento con agonistas de PPAR- γ , si bien evita levemente la pérdida de masa del TA, no logra controlar la respuesta inflamatoria a nivel local. Por otra parte, estudios realizados en pacientes chagásicos crónicos con miocardiopatía evidencian trastornos neuroendocrinos, caracterizados por una disminución en las concentraciones séricas de dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-s), una relación cortisol/DHEA-s aumentada, alteraciones en diversos parámetros metabólicos, desregulación de la producción de leptina y adiponectina y un aumento en el nivel de expresión de PPAR- γ en células mononucleares de sangre periférica. En conjunto, estos resultados evidencian la relevancia que tienen las interacciones entre los distintos sistemas sobre los mecanismos de defensa del huésped y la severidad de la patología.

Análisis del efecto inmunomodulador del Bacilo Calmette Guerin en la infección por *Trypanosoma cruzi* y su potencial uso para el diseño de vacunas que controlen la enfermedad de Chagas.

Bontempi Iván¹, Vicco Miguel¹, Leal Karen², Rodeles Luz¹, Prochetto Estefania¹, Cabrera Gabriel¹, Bortolotti Ana³, Morbidoni Hector³, Borsuk Sibelé², Dellagosti Oddir², Marcipar Iván¹¹ Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Argentina. ² Centro de Biotecnología - Universidade Federal de Pelotas, Brasil. ³ Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Médica, Universidad Nacional de Rosario.

La vacuna Bacillus Calmette-Guérin (BCG) es actualmente la vacuna más ampliamente utilizada en el mundo, por lo que sus efectos en humanos son ampliamente conocidos. A su vez ofrece ventajas únicas; su eficacia no es afectada por anticuerpos maternos; una sola dosis provoca inmunidad de larga duración; es estable; segura; se puede administrar por vía oral; su producción es económica. En un trabajo previo, hemos evaluado el estado clínico y serológico de pacientes infectados con *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) vacunados y no vacunado con BCG. Observamos que las personas no vacunadas presentaban mayores niveles de autoanticuerpos, estadios más avanzados de miocardiopatía chagásica crónica y mayor riesgo de mortalidad en comparación con los pacientes vacunados con BCG. En base a estos resultados hemos evaluado a la vacuna BCG en una infección experimental en ratones con *T. cruzi*. En dicho modelo, determinamos en forma preliminar el efecto protector que presenta la vacuna BCG frente a un desafío, tanto en la supervivencia como en la respuesta humoral y celular reguladora. Todos estos antecedentes sugieren que la vacuna BCG otorga un efecto inmunomodulador beneficioso frente a la infección por *T. cruzi*. Sobre esta base planteamos la hipótesis de que la misma podría tener un efecto adyuvante favorable en el marco de una formulación vacunal contra dicho parásito. Nos propusimos entonces obtener un prototipo de vacuna BCG recombinante (BCGr) para controlar la enfermedad de Chagas. En las últimas décadas, se han desarrollado distintos plásmidos para expresar proteínas heterólogas en BCGr. Empleando los plásmidos Pus977 y Pus2000 que presentan diferentes promotores, hemos diseñado BCGr que expresan fracciones de la enzima Transialidasa (NTS y CTS) y las hemos evaluados en un modelo de infección con *T. cruzi*. Utilizamos fracciones del antígeno TS ya que según evaluaciones de otros autores y nuestro grupo, esta es una de las proteínas más efectivas, cuando se evalúa para el desarrollo de vacunas contra *T. cruzi* en modelos de animales. Luego de la inmunización con dichas construcciones se obtuvo una significativa hipersensibilidad de tipo retardado frente al antígeno específico (DTH, $p < 0,05$), así como un aumento de la actividad de los anticuerpos tripanolíticos en comparación con el grupo control ($p < 0,05$). Luego del desafío con una dosis letal de parásitos, los grupos NTS-Pus977 y NTS-Pus2000 tuvieron supervivencias de 80 y 100%, respectivamente, comparado con el 20% del grupo de control ($p < 0,05$). Además, dichos grupos tuvieron una menor parasitemia y pérdida de peso, a los 14 días post infección, en comparación con el grupo control. Estos primeros resultados muestran que la BCG recombinante es una plataforma compatible y promisorio para el diseño de vacunas contra *T. cruzi*, siendo una estrategia no evaluada hasta la fecha.

Vacunas contra la enfermedad de Chagas: ¿Generar una respuesta inmunepotente, o diferente?

Sánchez Alberti A, Cerny N, Bivona A, Matos M, Cardoso A, Bastone A, Cazorla S, Malchiodi E. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Inmunología-IDEHU (UBA-CONICET) y Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología-IMPAM (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Trypanosoma cruzi ha sido definido como un invasor silencioso por la capacidad que tiene de activar tardíamente la respuesta inmune durante los primeros momentos de infección. Este parásito ha evolucionado para vivir en mamíferos a pesar de generar una respuesta inmune compleja que incluye numerosos componentes humorales y celulares de la inmunidad innata y adquirida. Este hecho indica que la respuesta inmune natural es inherentemente inadecuada para eliminarlo, aunque si es suficiente para controlar relativamente la carga parasitaria permitiendo la supervivencia del hospedador. Se han realizado numerosos esfuerzos para obtener vacunas eficientes empleando diferentes antígenos con

éxito parcial. Dado que no se han reportado candidatos vacunales esterilizantes, es importante encontrar vacunas profilácticas que generen células de memoria efectora dirigidas contra blancos claves que permitan controlar tempranamente la replicación parasitaria, contribuyendo así al descenso del parasitismo. A su vez, reorientar la respuesta inmune contra blancos menos inmunogénicos luego de la infección, resulta atractivo en la búsqueda de vacunas terapéuticas. Nosotros hemos identificados varios antígenos con capacidad protectora y tempranamente, identificamos también el rol fundamental de los adyuvantes en la orientación de la respuesta inmune contra *T. cruzi*. De este modo hemos trabajado con los siguientes antígenos: Cruzipaina y sus dominios, Tc52 y sus dominios, Tc24, ASP-2, Chagasina y Tc80. Estos antígenos fueron utilizados como proteínas recombinantes y también sus ADN codificantes (como plásmidos desnudos o transportados por *Salmonella* atenuada), solas o en combinación. Para modular la respuesta inmune hemos utilizado adyuvantes de muy diversa naturaleza, incluyendo: adyuvante de Freund, Al(OH)₃, oligodeoxinucleótidos CpG, GM-CSF, glucolípidos de α -galactosilceramida, y más recientemente di-nucleótidos cíclicos como el c-di-AMP. El estudio de la respuesta inmune generada con estos adyuvantes ha permitido identificar el rol protector de las respuestas dirigidas hacia perfiles Th1 y Th17 con presencia de células T CD8⁺ patógeno-específicas. La esterilidad profiláctica no ha sido alcanzada todavía, sin embargo, obtener protección contra la enfermedad podría no requerir el quizás inalcanzable objetivo de la esterilidad, pero sería igualmente importante proveer un eficiente control de la carga parasitaria para evitar la progresión de la infección por *T. cruzi* hacia la enfermedad de Chagas.

Disfunción inmune y metabólica en un modelo de obesidad inducido por dieta: Rol clave del *Trypanosoma cruzi* en la progresión a diabetes y polarización de macrófagos en tejido adiposo.

María E Cabalén¹, María F Cabral¹, Liliana M Sanmarco², Marta C Andrada¹, Luisina I Onofrio², Nicolás E. Ponce², María P Aoki², Susana Gea², **Roxana C Cano**^{1,2} 1-Facultad de Ciencias Químicas. UA Área CS, AGR. ING. BIO y S CONICET. Universidad Católica de Córdoba, Argentina. 2-Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba y Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Córdoba, Argentina

La Obesidad y la Enfermedad de Chagas causada por el protozoo intracelular *Trypanosoma cruzi*, patologías crónicas en su naturaleza, representan serios problemas de Salud. Sus co-morbilidades asociadas entre ellas, las enfermedades cardiovasculares, son un tópico de creciente interés, en parte, como consecuencia de la disfunción metabólica e inmune que conllevan. El tejido adiposo (TA) es un reservorio conocido del *T. cruzi* sin embargo, la compleja interrelación del parásito con el TA, el sistema inmune y el metabolismo en un ambiente obesogénico, ha sido poco explorada. Esta particularidad ha engendrado un campo de estudio novedoso e interesante que comprende a la tríada infección, nutrición e inmunometabolismo. Nuestro objetivo fue desarrollar en primer lugar, un modelo de obesidad con características no extremas inducido por dieta (DIO), que nos proporcionara una plataforma útil para abordar las formas clínicas de obesidad prevalentes y luego, investigar el rol de este parásito, sobre la disfunción metabólica e inflamatoria y sus repercusiones principalmente cardiovasculares. Este nuevo modelo se diseñó usando ratones C57BL/6 salvajes sometidos a una dieta moderada en grasas, fructosa en el agua de bebida y dosis mínima de estreptozotocina y estudiamos el efecto crónico de la infección con 500 tripomastigotes-cepa Tulahuén (DIO+I) sobre parámetros metabólicos y desórdenes relacionados a la obesidad. Demostramos en ratones DIO, aumento de leptina, insulino resistencia, dislipemia y esteatosis cardíaca y hepática. Sorprendentemente, estas alteraciones metabólicas fueron mejoradas por la infección, pero los niveles del biomarcador, apolipoproteína B100, en plasma estuvieron incrementados significativamente en ratones DIO+I, sugiriendo la presencia de partículas pro-aterogénicas: LDL pequeñas y densas. El grupo DIO+I, mostró además resistencia aguda a la acción de la insulina, con hiperglucemia crónica e hipoinsulinemia, evidenciando una progresión a diabetes inducida por la infección. En este modelo, las anormalidades demostradas en la homeostasis de los glúcidos y lípidos fueron dependientes de la señal dada por el receptor tipo Toll 4, ya que ratones deficientes (TLR4^{-/-}), estuvieron protegidos de la obesidad y sus complicaciones. De manera interesante, la infección parasitaria provocó un fuerte incremento en macrófagos productores de la quimiocina MCP-1 con un fenotipo M2 (F4/80+CD11c-CD206+) asociado a un estrés oxidativo exacerbado en TA visceral (TAV) de ratones DIO+I. Nuestros resultados permiten concluir que la infección crónica con *T. cruzi*, fue capaz de disminuir el contenido de lípidos, inducir una potenciación del perfil M2 de macrófagos en TAV y una fuerte respuesta inflamatoria en los tejidos blanco del hospedador. Hallazgos que en su conjunto, sugieren un rol clave del parásito, su persistencia y la desregulación inmunometabólica concomitante, como factores que contribuyen a la progresión a diabetes/aterosclerosis.

MR5 Caracterización Blancos Moleculares y Búsqueda de Nuevos Agentes Tripanocidas

(Sala P1) Moderadores: Dr. Sergio Guerrero/ Dr. Diego Arias

Búsqueda in silico de nuevos fármacos tripanocidas.

Alan Talevi Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Bioactivos, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata – CONICET. atalevi@biol.unlp.edu.ar

La búsqueda *in silico* de nuevas soluciones terapéuticas constituye una excelente alternativa en nuestro escenario regional, comprendiendo tanto el diseño asistido por computadora como el cribado *in silico*. Este último supone la aplicación de modelos o algoritmos computacionales para detectar compuestos con determinada actividad farmacológica en bibliotecas químicas digitales. Al enfocar la búsqueda virtual en repositorios químicos adecuados, es posible desarrollar reposicionamiento de fármacos asistido por computadora, una estrategia eficiente y económica para el descubrimiento de tratamientos innovadores. Esencialmente, consiste en encontrar nuevos usos médicos de drogas ya existentes, incluyendo fármacos de uso en la clínica, discontinuados y en desarrollo. La elección de la metodología cuya aplicación resulta más conveniente depende críticamente de la información disponible sobre el blanco molecular de interés y sobre ligandos conocidos del mismo, pudiéndose optar, según el caso, entre metodologías directas (basadas en el blanco molecular), indirectas (basadas en los ligandos), métodos híbridos y, más recientemente, el análisis topológico de redes fármaco-proteína. Durante la presentación se expondrán sintéticamente los resultados obtenidos al aplicar esta estrategia para identificar compuestos con actividad tripanocida, incluyendo el enfoque en blancos moleculares diversos tales como la cruzipaina, el metabolismo de poliaminas y la N-miristoil transferasa. En algunos casos, se ha logrado avanzar con los candidatos hasta modelos animales de infección aguda y crónica, con resultados prometedores.

El transporte de hemo como posible blanco para la inhibición de la replicación de *T. cruzi*, ¿Podemos diseñar una estrategia que permita bloquear eficientemente el transporte de hemo?

Julia A. Cricco, Lucas Pagura, Marcelo L. Merli y Brenda A. Cirulli. Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR) CONICET – UNR. Área Biofísica, Dpto. Química Biológica. Fac. de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. Suipacha 531. CP 2000. Rosario, Santa Fe. cricco@ibr-conicet.gov.ar

El grupo hemo es un cofactor esencial para los organismos aerobios y la mayoría de ellos puede sintetizarlo a partir de una ruta conservada. Sin embargo, existen algunos microorganismos aerobios que contienen hemoproteínas que intervienen en diversas rutas metabólicas pero no tienen la capacidad de sintetizar el cofactor. En este grupo encontramos a microorganismos patógenos como los tripanosomátidos, en particular *Trypanosoma cruzi* carece de las enzimas de la ruta de síntesis de hemo pero contiene hemoproteínas esenciales como los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial, entre ellas el complejo citocromo *c* oxidasa tipo *aa3*, también enzimas involucradas en la síntesis de ergosterol como CYP450, *cyt b5*, etc (Tripodi *et al.*, 2011). En nuestro laboratorio estamos interesados en dilucidar los mecanismos de transporte, distribución y utilización del hemo en *T. cruzi*, identificar y caracterizar las proteínas que participan, y finalmente estudiar la utilización mitocondrial del hemo en sus distintas formas. Nuestros resultados muestran que, en primer lugar, *T. cruzi* es capaz de captar y transportar el hemo durante los estadios replicativos de su ciclo de vida (epimastigote y amastigote), pero no así como tripomastigote, y además, la existencia de un transportador proteico capaz de discriminar entre compuesto estructuralmente similares (Merli, *et al.*, 2016). También logramos la caracterización de una proteína de *T. cruzi* TcHTE (por Heme Transport Enhancer), conservada en tripanosomátidos, que presenta homología con Ce-HRG4 de *C. elegans*. TcHTE pudo ser detectada principalmente en los estadios de epimastigote y amastigote, y en menor grado en tripomastigote, y se localiza claramente en el bolsillo flagelar del parásito. En epimastigotes, los niveles detectados de TcHTE cambian de acuerdo a la variación del contenido intracelular de hemo. Estos resultados apoyan la hipótesis de que TcHTE cumpliría una función crítica para la correcta captación y transporte de hemo en *T. cruzi*, probablemente cumpla un rol relevante en la optimización del transporte/tráfico de hemo regulando esta actividad, sin excluir la posibilidad de que forme parte del complejo transportador. Entonces, considerando el rol crítico

y esencial que cumple el hemo y que su inhibición es letal para el parásito, nos interesa responder si es posible inhibir el transporte de hemo de *T. cruzi* de manera eficiente y selectiva en los distintos estadios.

Dando los primeros pasos en las técnicas de “Virtual Screening” para el reposicionamiento de drogas con actividad tripanocida.

Claudio A. Pereira¹, Chantal Reigada¹, Edward Valera¹, Carla C. Avila², Melisa M. Sayé¹, Mariana R. Miranda¹. ¹Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM-CONICET) y ²Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de San Pablo, Brasil. cpereira@retina.ar

Las poliaminas son compuestos policatiónicos esenciales para el crecimiento y la diferenciación celular. A diferencia de otros protozoos, *Trypanosoma cruzi* RYANOSOMA CRUZI es auxótrofo para poliaminas, por lo tanto la disponibilidad intracelular de las mismas depende exclusivamente de procesos de transporte desde el medio externo. Respecto a inhibidores del transporte, trabajos previos reportaron que el acetato de retinol inhibe el crecimiento de *Leishmania* y disminuye su concentración intracelular de poliaminas. Tomando estos datos como punto de partida, se realizó una estrategia combinada de reposicionamiento de drogas por “virtual screening” seguido por ensayos *in vitro*. El objetivo fue identificar drogas capaces de inhibir el único transportador de poliaminas descrito en *T. cruzi* (TcPAT12) y evaluar su capacidad tripanocida. Mediante un “screening” por similitud en una base de datos de 3,000 fármacos aprobados por la “U S Food and Drug Administration” (FDA) y el acetato de retinol como molécula de referencia, se obtuvieron siete retinoides utilizados en medicina humana. Posteriormente se realizaron ensayos de “molecular docking” entre TcPAT12 y los retinoides seleccionados. En base a los resultados obtenidos, la isotretinoína, un medicamento utilizado para el tratamiento del acné, fue seleccionada para continuar en estudios *in vitro*. La isotretinoína inhibió el transporte de poliaminas así como también los transportadores de aminoácidos de la misma familia a la que pertenece TcPAT12 (TcAAAP). Los valores de IC₅₀ calculados se encontraron en el rango de 4.6 a 10.3 µM. La isotretinoína también mostró un fuerte efecto tripanocida sobre el estadio tripomastigote con una IC₅₀ de 130 nM. Sin embargo su efecto fue menor sobre epimastigotes (IC₅₀ = 30.6 µM). No se observó efecto inhibitorio sobre la actividad de transportadores no relacionados estructuralmente a TcPAT12, tampoco que la droga altere la permeabilidad de la membrana plasmática ni afecte viabilidad de células de mamíferos a las concentraciones ensayadas. Estos resultados sugieren que la isotretinoína es una droga tripanocida prometedora, por ser un inhibidor multi-diana de un grupo de transportadores de metabolitos esenciales. Además, este es un fármaco utilizado hace décadas en medicina humana, lo que reduce significativamente los requisitos para su posible aplicación en la terapia para la enfermedad de Chagas.

Screening de drogas reposicionables con actividad anti-*Trypanosoma cruzi* en modelos in vitro e in vivo.

GULIN, JEN; ROCCO, D; BISIO, M; ALTICHEH, J; GARCÍA-BOURNISSEN, F. Servicio de Parasitología y Enfermedad de Chagas – Hospital de Niños “Ricardo Gutiérrez”. Buenos Aires, Argentina.

Las opciones terapéuticas actuales para la enfermedad de Chagas se limitan a benznidazol (BZ) y nifurtimox (NFX). Existe la necesidad de estudiar otros compuestos eficaces y con mejor tolerancia. El reposicionamiento de fármacos es una estrategia rápida y de bajo costo para identificar compuestos con potencial actividad anti-*T. cruzi*, mientras que la terapia combinatoria cuenta con la ventaja de disminuir las dosis terapéuticas y la duración del tratamiento. En un sistema de cribado fenotípico *in vitro* de mediano rendimiento, se evaluaron 23 compuestos a concentración fija (10 µM) sobre amastigotes y tripomastigotes, estableciendo el porcentaje de actividad relativa (AR) comparado con BZ y NFX. 15 compuestos exhibieron al menos un 50% de AR. Hasta el momento se evaluaron 6 principios activos, obteniéndose la concentración lítica 50 (CL₅₀) sobre tripomastigotes, la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) sobre amastigotes, y en simultáneo, la citotoxicidad sobre las células hospedadoras. Miltefosina (MLT) y pirimetamina (PYP) presentaron valores de CL₅₀= 0,127 y 0,563 µM respectivamente, justificando continuar con su evaluación en un modelo murino de infección aguda. Hembras BALB/c de 5 semanas de edad fueron infectadas con la cepa VD de *T. cruzi* (UDT TcVI) y tratadas con MLT a 25, 50, 75 y 100 mg/kg, o con PYP a 50 mg/kg durante 20 días consecutivos por vía oral. Se incluyeron grupos infectados no tratados y tratados con BZ o NFX (100 mg/kg/día). MLT produjo una disminución de la parasitemia dosis dependiente, con 100% de supervivencia en los grupos tratados a partir de la dosis 50 mg/kg. Los ratones con parasitemia negativa fueron sometidos a un ciclo de inmunosupresión, registrándose una reagudización en el 100% de ratones tratados con MLT, así como en todos los ratones del grupo BZ, y en 57% del grupo NFX. PYP no tuvo efecto sobre la parasitemia y la mortalidad fue de 100%. En este

modelo, MLT tendría un efecto parasitostático mientras que PYR no demostró actividad *in vivo*. Se continuará con ensayos *in vitro* e *in vivo* para evaluar el efecto parasiticida de las combinaciones con BZ o NFX, junto con el cribado de un mayor número de compuestos reposicionados.

MR 6 Inmunología

(Sala P13) Moderadores: Dra. Ana Rosa Perez/ Dra. Silvina Villar

High Mobility Group B de *Trypanosoma cruzi* (TcHMGB): en la intersección entre PAMPs y DAMPs

Pamela Cribb^{1,2*}, Virginia Perdomo^{1,2}, Jorge Barrios Payán³, Romina Manarin², Victoria L. Alonso², Esteban C. Serra^{1,2}, Rogelio Hernandez Pando³. ¹Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR), CONICET, Rosario, Argentina. ²Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario (UNR), Rosario, Argentina. ³Unidad de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, INCMNSZ, Mexico. cribb@ibr-conicet.gov.ar

Las proteínas High Mobility Group B (HMGB) son componentes estructurales de la cromatina involucrados en importantes procesos nucleares como la transcripción, replicación y reparación del ADN. Algunas HMGBs además juegan roles claves fuera de la célula donde actúan como alarminas o "DAMPs" (Damage-associated Molecular Patterns) gatillando la respuesta inflamatoria frente a una señal de peligro o daño tisular. Estas moléculas también juegan un rol central en la patogénesis de distintas enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas. Previamente, demostramos que la HMGB de *Trypanosoma cruzi* (TcHMGB) caracterizada por primera vez en nuestro laboratorio, posee propiedades arquitectónicas sobre el ADN como sus ortólogas. Para evaluar si la proteína del parásito es capaz de actuar también como mediador de la respuesta inmune, utilizamos una proteína TcHMGB recombinante para estimular macrófagos RAW 264.7 y ratones Balb/c. Los resultados obtenidos *in vitro* e *in vivo* sugieren que TcHMGB puede actuar como mediador inflamatorio, activando los macrófagos en la vía clásica e induciendo la producción de óxido nítrico y la expresión de citocinas pro-inflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IFN- γ . Por otra parte, también se observó un aumento en la expresión de TGF- β e IL-10, las cuales en general se asocian a una respuesta antiinflamatoria pero que además juegan roles claves en la Enfermedad de Chagas. Estos resultados, si bien preliminares, sugieren que la HMGB del parásito podría actuar como un mediador inmune exógeno. Así, TcHMGB podría ser considerado un nuevo patrón molecular asociado a patógeno (PAMP) con funciones parcialmente solapadas con las de los DAMPs del hospedador, el cual podría ser importante en la patogénesis de la enfermedad.

PD-L2 regula negativamente la inmunopatología mediada por la respuesta Th1 en la infección con *Fasciola hepatica*

Laura Cervi. Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, CIBICI-CONICET:

El parásito trematodo, *F.hepatica* es el agente causal de la fasciolosis, enfermedad que afecta a millones de bovinos y ovinos en todo el mundo. Fasciolosis es también unapatógenozoonótica importante, con una estimación de 2.6 millones de personas infectadas a nivel mundial. Una consecuencia de la infección con *F. hepatica*, es la supresión de la respuesta inmune dirigida contra infecciones bacterianas simultáneas o secundarias. Por ejemplo, ratones co-infectados con el parásito y *Bordetellapertussis* muestran una reducción significativa en la respuesta Th1-bacteriana específica y una incapacidad consecuente para eliminar el microbio. Además en modelos murinos se ha demostrado que los parásitos tienen la habilidad de limitar la extensión de la respuesta inmune protectora Th1, promoviendo mecanismos de curación anti-inflamatoria, mediado por una respuesta inmune de tipo Th2, y macrófagos M2. En las infecciones por helmintos, los macrófagos son críticos en el control de la inflamación, a través

de la señalización por moléculas co-inhibitorias como programmed death ligand 2 (PD-L2), la cual es capaz de unir a programmed death 1 (PD-1) expresado sobre células T activadas inhibiendo la proliferación de las mismas. Basados en estos antecedentes, nosotros investigamos la participación de la expresión de PD-L2 en células peritoneales durante la infección en ratones con *F. hepatica* y su influencia en el control de la respuesta inmune protectora y de la inmunopatología. Pudimos establecer que la expresión de PD-L2 se incrementa en las etapas tempranas de la infección con el parásito en macrófagos peritoneales y que su expresión es crítica para la inducción de macrófagos de tipo M2. Además, la ausencia en la expresión de PD-L2 se correlacionó con un aumento de la susceptibilidad a la infección por *F. hepatica*, como se evidencia por una reducción en la tasa de supervivencia y un aumento del daño hepático en ratones PD-L2 KO. Al mismo tiempo, se observó una reducción en la producción de las citoquinas de tipo Th2, IL-4 e IL-10, en esplenocitos de ratones PD-L2 KO infectados, y se encontró un aumento de la producción de IFN- γ en esplenocitos y leucocitos intrahepáticos de estos animales. En conjunto, nuestros datos demuestran que durante la infección con *F. hepatica*, la vía de señalización PD-L2 está involucrada en la polarización de macrófagos alternativa, así como en el control de la respuesta inmune de tipo Th1 subyacente, y de forma concomitante juega un papel clave en la determinación de la susceptibilidad a la infección con este helminto.

Regulación de la respuesta celular T a través de la vía de señalización de STAT en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.

Natale MA^{1,2}, Alvarez MG³, Viotti R³, Bertocchi G³, Lococo B³, Albareda MC¹, Laucella S¹ ¹INP "Dr. F. Chaben" Buenos Aires, Argentina; ²CONICET, Argentina; ³HIGA "Eva Perón", Buenos Aires, Argentina

Resultados previos de nuestro grupo han demostrado que las manifestaciones clínicas severas de la enfermedad de Chagas se correlacionan fuertemente con la pérdida de la funcionalidad y número de linfocitos T específicos para el *Trypanosoma cruzi*. Los pacientes crónicamente infectados muestran también una disminución en la expresión del receptor de IL7 (IL-7R), el que participa a través de su interacción con la IL-7 en la supervivencia, diferenciación y proliferación de linfocitos T vírgenes y de memoria. Luego de la activación de las células T, la expresión de las dos cadenas que componen el IL-7R es diferente: mientras que la cadena CD127 baja su expresión, la expresión de la cadena CD132 es aumentada rápidamente. En este trabajo, estudiamos la capacidad de las células T para responder a antígenos de *T. cruzi* y su relación con la expresión de los componentes (CD127/CD132) y la funcionalidad del receptor de la IL-7 en pacientes con diferentes formas clínicas de la enfermedad de Chagas crónica. Se observó una disminución en el porcentaje de células de memoria CD4⁺CD45RA⁻CD127⁺CD132⁺ y CD8⁺CD45RA⁻CD127⁺CD132⁺ en pacientes con menor grado de disfunción cardíaca en comparación con aquellos en estadios más severos y controles no infectados. A su vez, los pacientes con respuesta celular T positiva a un lisado de *T. cruzi*, medida a través de la técnica de ELISPOT para IFN- γ e IL-2, fueron los que presentaron menor frecuencia de células T CD4⁺/CD8⁺CD45RA⁻CD127⁺CD132⁺ en comparación con pacientes con respuesta celular negativa, sugiriendo que los pacientes en mejor condición clínica son capaces de modular la expresión del IL-7R. La falta de respuesta celular T específica para *T. cruzi* en pacientes con síntomas cardíacos se correlacionó con una menor capacidad funcional del IL-7R, evaluada por la capacidad de IL-7 de inducir la fosforilación de STAT5 y la expresión de CD25 en linfocitos T. Estos resultados sustentan que la existencia de alteraciones en la vía de señalización del IL-7R sería otro factor involucrado en el proceso de agotamiento inmunológico ante la infección persistente por *T. cruzi*.

Perfil de diferenciación de las células T en distintas formas clínicas de Leishmaniasis Tegumentaria Americana.

Cecilia Parodi^{1,2}, *María F. García Bustos*¹, *Alejandra Barrio*³, *Federico Ramos*¹, *Ana G. Gonzalez Prieto*³, *María C. Mora*¹, *Patricia Baré*², *Miguel A. Basombrio*¹, *María M. de Elizalde de Bracco*² ¹Instituto de Patología Experimental (IPE), CONICET, Universidad Nacional de Salta, Salta. ²Laboratorio de Inmunología, Instituto de Medicina Experimental (IMEX), CONICET, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires. ³Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Salta. e-mail: ceciliaparodi@conicet.gov.ar

La Leishmaniasis Tegumentaria Americana presenta dos formas clínicas principales: cutánea (LC) y mucosa (LM). La LM es más resistente al tratamiento específico, y presenta mayor severidad y duración de la enfermedad. Las mismas especies de *Leishmania* (*L. braziliensis* y *L. amazonensis*) son responsables de ambas formas, por lo que la respuesta inmune del hospedador resultaría un factor determinante en la evolución de la infección. En este trabajo nos propusimos determinar el perfil de diferenciación y de memoria de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ periféricos provenientes de pacientes con LC y LM, con el fin de comparar las características fenotípicas halladas en una u otra forma clínica, como también entre pacientes mono infectados por *Leishmania* o coinfectados por *Leishmania-Trypanosoma cruzi*. Además, nuestra intención fue correlacionar la expresión de marcadores de diferenciación con el tiempo de infección y su modulación en el seguimiento de casos clínicos. Para esto, determinamos sobre linfocitos T periféricos la expresión de los receptores CD27, CD28, CD45RO, CD127, PD-1 y CD57, junto con la presencia en citoplasma de moléculas efectoras: interferon- γ y perforina. Demostramos la existencia de un fenotipo altamente diferenciado en ambas subpoblaciones de células T analizando muestras de pacientes con LM, y preferentemente en la subpoblación T CD8⁺ de pacientes con LC. Por otra parte, observamos tendencia a presentar un perfil de diferenciación T más avanzado en los linfocitos de pacientes con LC o LM infectados por *T. cruzi*, comparando con los pacientes con infección única por *Leishmania*. En la forma cutánea, analizando el período comprendido hasta el primer año post-infección, encontramos una asociación positiva entre la duración de la enfermedad y el estadio de diferenciación de los linfocitos T CD8⁺, con el hallazgo de un aumento progresivo de marcadores de diferenciación tardía al avanzar en el tiempo. Por último, realizamos el seguimiento de algunos pacientes con la forma de presentación mucosa. En los casos que exhibieron buena respuesta al tratamiento, se encontró preferentemente predominio de células T CD8⁺ de diferenciación temprana, mientras que las células T CD8⁺ de pacientes que presentaron recidivas clínicas frecuentes mostraron el patrón fenotípico opuesto. En conclusión, en nuestro trabajo demostramos que la subpoblación de linfocitos T CD8⁺ sufre los cambios fenotípicos más representativos durante la leishmaniasis. Determinamos que los pacientes con infecciones prolongadas en el tiempo muestran el mayor grado de diferenciación, lo cual implicaría una relación entre diferenciación T y persistencia del parásito en el organismo. El hallazgo de patrones de diferenciación T CD8⁺ distintos durante el seguimiento de pacientes con diferente evolución clínica sugiere la posible utilización de estos análisis en la caracterización de los pacientes infectados por *Leishmania*.

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

1- TRANSLATIONAL CONTROL IN *T. CRUZI*

Maria Camara⁽¹⁾, Santiago Bertotti⁽²⁾, Juan D Alfonso⁽³⁾, Calos A Buscaglia⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾IIB-INTECH-UNSAM. ⁽³⁾Department of Microbiology, University of Chicago.

E-mail: milagritos.camara@gmail.com

The protozoan *T. cruzi* is the etiological agent of Chagas disease, a major public health issue in Latin America. Due to its predominant clonal proliferation, this species is composed by multiple “discrete typing units” displaying considerable genetic diversity. Comparative analysis led to the identification of quantitative/qualitative differences on the expression of multiple molecules including well-established virulence factors such as trans-sialidases and mucins. It has been explored that control of gene expression in *T. cruzi* is essentially concerted by post-transcriptional mechanisms which would be reinforced by epigenetic factors and/or translational control. TcSMUG is an homogeneous multiple member family of Thr-rich mucins genes. Along their transit to the parasite surface, the hydroxyl groups of some of the Thr residues are further elaborated with short O-linked oligosaccharide chains that are thought to confer protective, adhesive and functional properties to the mature TcSMUG products. TcSMUG is composed of two groups of genes, named L and S, organized in independent tandem arrays and differing in the structure of their genomic loci. Both groups are co-expressed in the epimastigotes stage, and share structural homologies, but present different functions and post-transcriptional modifications. One notable feature is that TcSMUGL products in contrast to TcSMUGS show substantial differences in their expression levels among parasites stocks. In the present work we explore the molecular basis which controls TcSMUG L inter-stock differential expression variability which would be relying in a translational mechanism operating on TcSMUGL mRNAs which would depend on stock specific codon usage and differences in the overall “tRNA signature” (tRNAs gene transcription, tRNA maturation and tRNA editing).

2 - CENTRAL ROLE OF GLUTAMINE BIOSYNTHESIS IN THE NITROGEN HOMEOSTASIS OF *Trypanosoma cruzi*

Marcell Crispim⁽¹⁾, Flávia Silva Damasceno⁽²⁾, Agustín Hernández López⁽³⁾, María Julia Barisón⁽⁴⁾, Raphael Souza Pavaní⁽⁵⁾, Maria Carolina Quartim Barbosa Elias Sabbaga⁽⁶⁾, Ariel Mariano Silber⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾Universidade de São Paulo. ⁽⁵⁾⁽⁶⁾Instituto Butantan.

E-mail: marcellcrispim@gmail.com

Glutamine synthetase (GS) is an enzyme involved in many cellular functions, among them, the nitrogen detoxification by glutamine biosynthesis. Due to this fact, Glutamine is hub of -NH₂, providing nitrogen to other metabolites and participating of diverse metabolic pathways, such as the purines, pyrimidines, other amino acids and hexosamines. In *Trypanosoma cruzi*, glutamate is one of the substrates of the reaction catalysed by GS. This amino acid can be synthesized from TCA cycle intermediates or transported from the extracellular medium and participates in the energy production, oxidative stress resistance, metacyclogenesis, and osmoregulation. Therefore the GS and other enzymes involved in the degradation of this amino acid could be important for the parasite viability. The recombinant GS from *T. cruzi*, was expressed in *E. coli* and purified in its active form. The kinetic parameters V_{max}, K_m, K_{cat}, E_a, the cofactor influence, specificity for substrates and the optimum pH were established by using two different methods. The existence of a quaternary structure was revealed by non-denaturing electrophoresis and size-exclusion chromatography, constituting an active macromolecular complex of a 320 kDa which corresponds to an octamer. The TcGS subcellular localization, in all parasite stages, was both cytosolic and mitochondrial. The treatment of infected cells with a TcGS inhibitor, L-Methionine sulfoximine, reduced the trypomastigote bursting in CHO-K1 infections (IC₅₀ = 20.02 μM, non-toxic up to 10 mM in CHO-K1) and affected mostly the amastigotes. In addition, the amastigote stage has the higher GS transcript amount, enzyme activity, as well as the higher protein expression. As these are dependent on amino acid degradation as energy source, producing NH₄⁺, and GS inhibition diminished the infection yields, we propose that

TcGS is relevant in the intracellular cycle, due to its role on ammonium detoxification.

3 - GENÉTICA POBLACIONAL DE LUTZOMYIA LONGIPALPIS S.L. (DIPTERA: PSYCHODIDAE), VECTOR DE LEISHMANIA INFANTUM EN ARGENTINA

Angélica Pech May⁽¹⁾, Janine Ramsey⁽²⁾, Domingo Liotta⁽³⁾, Magali Giuliani⁽⁴⁾, Pablo Berrozpe⁽⁵⁾, Quintana María Gabriela⁽⁶⁾, Oscar Daniel Salomón

⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁷⁾ *Instituto Nacional de Medicina Tropical.*

⁽²⁾ *Instituto Nacional de Salud Pública.*

⁽³⁾ *Universidad Nacional de Misiones.*

⁽⁶⁾ *Universidad Nacional de Tucumán. E-mail:*

apechmay@gmail.com

Lutzomyia longipalpis es el vector más importante en la transmisión de *Leishmania infantum* en América Latina. En la actualidad varios autores sugieren que *Lu. longipalpis* es un complejo de al menos cuatro especies hermanas. En el presente trabajo se reportan los resultados de la diversidad y diferenciación genética, así como la filogeografía intra- específica de *Lu. longipalpis* s.l. en Argentina, inferido con la región 3' del gen *cyt b*. Los especímenes fueron colectados con trampas CDC a partir del 2013 en Clorinda (Clo), Corrientes (Corr), Puerto Iguazú (Ig), San Ignacio (SI), Santo Tome (ST) y Tartagal (Tar). Secuencias del 3' del gen *cyt b* de *Lu. longipalpis* disponibles en el GenBank fueron usadas para análisis filogeográfico. Se identificaron 18 haplotipos de las 76 secuencias de Argentina, con una variación de 2-12 por localidad. La diversidad haplotípica global fue alta, mientras que la diversidad nucleotídica y el índice de polimorfismo nucleotídico fueron bajos. Los índices de diversidad genética más altos fueron identificados en Tar y ST, mientras que Clo y Corr tuvieron los índices más bajos. La estructura poblacional fue alta y la mayor variación fue intra- poblacional. Las poblaciones con mayor diferenciación genética fueron entre SI vs Corr, mientras que las más cercanas genéticamente fueron PI vs Tar. La inferencia Bayesiana filogeográfica indica que el ejemplar de Venezuela se separa completamente de las poblaciones de Argentina y Brasil. Ejemplares de las poblaciones de ST y Tar se agrupan con Juazeiro (Brasil), y en la red de haplotipos se encuentran a dos-tres pasos mutacionales. Haplotipos de *Lu. longipalpis* de varios estados de Brasil se encuentran a al

menos cuatro pasos mutacionales del haplotipo más frecuente de Argentina. Los resultados sugieren que la estructura genética y la divergencia poblacional de *Lu. longipalpis* puede deberse a patrones asociados con las discontinuidades climáticas, geográficas y/o a la fragmentación del hábitat. Los pocos pasos mutacionales entre las poblaciones de Juazeiro con las poblaciones Argentinas indican que hubo o existe un flujo genético entre ambas y/o con los estados más próximos a las zonas de frontera con Argentina. Para un análisis más robusto filogeográfico, se van a analizar con el mismo marcador, muestras de *Lu. longipalpis* de países vecinos como Bolivia, Paraguay, Uruguay, así como ampliar el número de secuencias de estados vecinos de Brasil.

4 CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL Y BIOQUÍMICA DEL TRANSPORTE DE RIBOFLAVINA EN TRIPANOSOMÁTIDOS

Dario Balcazar⁽¹⁾, Hernán Bonomi⁽²⁾, Carolina Carrillo⁽³⁾

⁽¹⁾⁽³⁾ *ICT-Milstein- CONICET.* ⁽²⁾ *Fundación Instituto Leloir.*

E-mail: darioebalcazar@gmail.com

La Enfermedad de Chagas es una endemia americana, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Los tratamientos actuales presentan eficacia limitada, alta toxicidad y pueden generar resistencia por lo que resulta necesario desarrollar nuevas terapias que apunten a blancos esenciales y específicos del parásito. La riboflavina (Rf) es una vitamina esencial para toda célula, por ser precursora de los cofactores FMN y FAD, responsables de una gran variedad de reacciones celulares. Se ha descrito que los tripanosomátidos son auxótrofos para Rf. Nuestros ensayos previos indicaron que la Rf estimula la proliferación de epimastigotes y amastigotes de *T. cruzi*, y también la metacicloogénesis, mientras que análogos de Rf interfirieron con estos procesos. También encontramos un potencial transportador de Rf (TcRibJ), identificado por análisis in silico, perteneciente a la superfamilia MFS. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el transporte de Rf en epimastigotes de *T. cruzi* y especies

relacionadas. Nuestros estudios muestran que los epimastigotes de *T. cruzi*, procíclicos de *T. brucei*, promastigotes de *L. mexicana* y de *Phytomonas Jma* y coanomastigotes de *C. fasciculata* fueron capaces de incorporar 3H-Rf, de manera tiempo- y concentración- dependiente. Para todos los casos, el transporte mostró afinidades similares entre sí, en el orden sub-micromolar (Km: 0,07 – 0,39 μ M). En estudios en epimastigotes de *T. cruzi*, se vio que FMN o FAD también son incorporados y que los análogos de Rf afectaron la incorporación de 3H-Rf. La expresión heteróloga de TcRibJ en bacterias *E. coli* auxótrofas para Rf recuperó la capacidad proliferativa de dichos cultivos en medios con baja disponibilidad de Rf, FMN o FAD. Por otra parte, la sobre-expresión de TcRibJ en epimastigotes mostró un incremento significativo en la velocidad de incorporación de Rf, corroborando su función como transportador de Rf en *T. cruzi*. Mediante estudios bioinformáticos se identificaron potenciales transportadores RibJ en diversos tripanosomátidos. Nuestros análisis filogenéticos determinaron que RibJ es exclusivo de este grupo taxonómico, observándose un origen común y una diversificación a lo largo de los distintos géneros. Estos resultados muestran avances en la caracterización del transporte de Rf en tripanosomátidos, particularmente en *T. cruzi*; y junto con análisis previos, señalan a Rf y su transporte como potencial blanco para el desarrollo de terapias nuevas/complementarias.

5 - RATIONAL DESIGN OF NITROFURAN DERIVATIVES: SYNTHESIS OPTIMIZATION, AND VALUATION AS INHIBITORS OF *Trypanosoma cruzi* TRYPANOTHIONE REDUCTASE

Diego G Arias(1), Fernando E Herrera(2), Alberto S Garay(3), Daniel Rodrigues(4), Pamela S Forastieri(5), Liliana E Luna(6), María DLM Bürgi(7), Claudio Prieto(8), Alberto A Iglesias(9), Sergio A Guerrero(10)

(1)(9)Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL). Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. (2)(3)(4)(7)(8)Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral..(5)(6)Instituto de Química Rosario (CONICET) - FCByF- Universidad Nacional de Rosario..(10)Instituto de Agrobiotecnología del

Litoral (CONICET-UNL). Facultad Regional Santa Fe, Universidad Tecnológica Nacional.

E-mail: darias@fcb.unl.edu.ar

Nitroheterocycle drugs are nowadays considered as a valid option for treating infectious diseases caused by trypanosomatids. The World Health Organization currently accepts nifurtimox in therapy trials combined with other validated drugs for the treatment of human African trypanosomiasis. In this work, we present the rational design and synthesis of a series of 5-nitro-2-furoic acid analogues that were tested for trypanocidal activity against epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi* and for toxic effects on human HeLa cells. Between all synthetic compounds, three of them had an IC50 value in the range of Nfx, but compound 13 exhibited an improved effect with an IC50 of $1.0 \pm 0.1 \mu$ M and a selective index of 70 in its toxicity against HeLa cells. We analyzed the activity of compounds 8, 12 and 13 to interfere in the central redox metabolic pathway in trypanosomatids, which is dependent of reduced trypanothione as the major pivotal thiol. The three compounds behaved as better inhibitors of trypanothione reductase than Nfx (Ki values of 118 μ M, 61 μ M and 68 μ M for 8, 12 and 13, respectively, compared with 245 μ M for Nfx), all following an uncompetitive enzyme inhibition pattern. Docking analysis predicted a binding of inhibitors to the enzyme-substrate complex with binding energy calculated in-silico that supports such molecular interaction.

6 - ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE PROLINA: EFECTO TRIPANOCIDA Y ACCIÓN SOBRE EL TRANSPORTADOR DE PROLINA TCAAAP069 DE *Trypanosoma cruzi*

Melisa M Sayé⁽¹⁾, Lucía Fargnoli⁽²⁾, Guillermo Labadié⁽³⁾, Claudio A Pereira⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾Laboratorio de Parasitología Molecular, IDIM-CONICET. ⁽²⁾⁽³⁾IQUIR-CONICET.

E-mail: melisa.msaye@hotmail.com

En tripanosomátidos, la prolina es un aminoácido relevante dado que constituye una fuente de carbono y energía alternativa a la glucosa. En *Trypanosoma cruzi*, la prolina también es importante no sólo para el crecimiento sino

también para la diferenciación entre estadios y la patogénesis. Además hay evidencias de su participación en la osmorregulación, y en la resistencia a estrés oxidativo, nutricional y a drogas tripanocidas. La permeasa de prolina TcAAAP069 pertenece a la familia de transportadores de aminoácidos y derivados TcAAAP, cuyos miembros no poseen homólogos en mamíferos y son los responsables de la adquisición de metabolitos, algunos esenciales para la supervivencia del parásito. Estas características convierten a los miembros de esta familia no sólo en interesantes blancos terapéuticos per se sino también en posibles vías de ingreso de fármacos tripanocidas. En este trabajo se ensayó el efecto de cuatro derivados de prolina sobre el transporte mediado por la permeasa de prolina TcAAAP069 y además se evaluaron como posibles agentes tripanocidas. Por un lado observamos que sólo los compuestos ITP-1B e ITP-1G fueron capaces de disminuir significativamente el transporte de prolina de una manera dosis-dependiente, y que el compuesto ITP-1G es el que presenta mayor efecto sobre el transportador TcAAAP069. Al medir los niveles de prolina intracelular en presencia y ausencia de los análogos, el único que no permitió el ingreso de prolina durante la incubación fue el compuesto ITP-1G. Adicionalmente se observó que los análogos ITP-1B, ITP-1D e ITP-1G poseen acción tripanocida en cultivos de epimastigotes de *T. cruzi* presentando IC50s entre 40 y 60 μ M. Por último evaluamos el efecto sobre el transporte de otros metabolitos, y observamos que el efecto de los compuestos ITP-1B e ITP-1G pareciera estar limitado a las permeasas de la familia TcAAAP. Nuestros resultados confirman la potencialidad de los transportadores TcAAAP como blancos terapéuticos y demuestran que es posible diseñar análogos sintéticos de aminoácidos con actividad tripanocida.

7 - CARACTERIZACIÓN CINÉTICA Y ESTRUCTURAL DE LA UDP-GLUCOSA PIROFOSFORILASA DE EUGLENA GRACILIS

Robertino J Muchut, Diego G Arias, Alberto A Iglesias, Sergio A Guerrero

*Laboratorio de Enzimología Molecular - Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (UNL-CONICET).
E-mail: rmuchut@santafe-conicet.gov.ar*

Euglena gracilis es un protozoo de agua dulce capaz de crecer fotosintéticamente o heterotróficamente usando una gran variedad de compuestos orgánicos como única fuente de carbono y energía para el crecimiento. *E. gracilis* es una fuente adecuada para la generación de varios compuestos usados para la producción de cosmecéuticos, nutracéuticos, alimentos, paramilon y ceras. Cuando se la cultiva aeróticamente produce como compuesto de reserva un polímero de glucosa, β -1,3 glucano (paramilon). En protozoos, la síntesis de oligo y polisacáridos estructurales y de reserva se produce a través de UDP-glucosa, un metabolito clave de las vías de hidratos de carbono presentes en la mayoría de los organismos, que se generan en una reacción catalizada por la UDP-glucosa pirofosforilasa (EC 2.7.7.9, UDP-Glc PPasa). En este contexto llevamos a cabo la síntesis de novo y el clonado molecular del gen que codifica para la UDP-Glc PPasa de *E. gracilis*. Esta enzima se expresó en células de *Escherichia coli*. La enzima purificada se caracterizó cinética y estructuralmente, obteniéndose una velocidad de síntesis de UDP-glucosa con valores de V_{max} de 3350 U/mg, y la afinidad para sustratos comparables a los encontrados para la enzima de otros protozoos (0,24 mM y 0,17 mM para glucosa-1P y UTP respectivamente). Se determinó una masa molecular de 55 kDa por cromatografía de exclusión molecular, correspondiente con una estructura monomérica. Además, los resultados muestran que la actividad de la enzima es afectada por la oxidación con diamida y peróxido de hidrógeno, siendo recuperada con la adición de ditiotritol, sugiriendo una posible regulación en la actividad de la enzima en *E. gracilis*. Financiado por ANPCyT (PICT'15 1149 y PICT'15 1767).

8 - GENOTIPOS DE T. GONDII EN CASOS DE TOXOPLASMOSIS AGUDA EN MUJERES GESTANTES EN ARGENTINA

Mariana Bernstein⁽¹⁾, Lais L Pardini⁽²⁾, Liliana A Carral⁽³⁾, María L Gos⁽⁴⁾, Gastón A Moré⁽⁵⁾, Federico J Kaufer⁽⁶⁾, Andrea Dellarupe⁽⁷⁾, Cristina Freuler⁽⁸⁾, Juan M Unzaga⁽⁹⁾, Ricardo A Durlach⁽¹⁰⁾, María C Venturini⁽¹¹⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁷⁾ *Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP/CONICET, Argentina.* ⁽³⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾ *Centro de Toxoplasmosis y otras Zoonosis, Hospital Alemán, CABA.* ⁽⁹⁾⁽¹¹⁾ *Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP.*
E-mail: marianverde@gmail.com

La toxoplasmosis humana puede causar lesiones variables en el feto en la primoinfección. El objetivo de este estudio fue aislar y genotipificar *T. gondii* a partir de muestras de mujeres embarazadas con toxoplasmosis aguda. En el Hospital Alemán se detectó infección aguda por serología en 4 mujeres en el último tercio de la gestación. Los casos se identificaron como 12/01 Hum, 14/04 Hum, 15/02 Hum y 16/01 Hum tomados en un lapso de 4 años. Para aislar al parásito se tomó muestra de placenta en 12/01 Hum y de sangre de cordón en los demás casos. Las muestras se inocularon en ratones y al sacrificio se envió SNC y otros órganos al LAINPA-FCV-UNLP donde se cuantificaron quistes e inocularon ratones deficientes para IFNY. Se obtuvieron parásitos del lavado peritoneal, se cultivaron en células Vero y se conservaron a -196°C. Se extrajo ADN de las muestras de humanos, del SNC y pulmón de los ratones y de los parásitos en cultivo, se realizó PCR con los primers específicos TOX5-TOX8. La genotipificación se realizó por n-PCR para 9 marcadores (M) seguida por cortes con enzimas de restricción. El genotipo observado para 12/01 Hum (tipo II para todos los M) es similar al identificado en *T. gondii* Data Base (Toxo-DB) como #1 ó 3, y al genotipo ME49 característico de Europa y Norteamérica. El genotipo para 14/04 Hum (8 M tipo III y 1 tipo I) fue similar al identificado como #14 ó 138 y al obtenido a partir de wallabies y gallinas de Argentina y de animales domésticos y silvestres de Sudamérica y Estados Unidos. Los genotipos encontrados para 15/02 Hum (6 M tipo III y 3 tipo I) y 16/01 Hum (7 M tipo III, 1 tipo I y 1 tipo II) no registran homólogos alélicos en la Toxo-DB. El linaje tipo II es poco frecuente en Sudamérica, pero se encontró en Chile y en cerdos y gallinas de la provincia de Buenos Aires reforzando la hipótesis de la importación de cepas canónicas en las zonas cercanas a los puertos internacionales. Los demás aislamientos son esperables para Sudamérica donde aparece frecuentemente una amplia variedad de combinaciones alélicas con predominancia del tipo III sobre todo en Brasil y

Argentina. Diferentes aislados identificados como atípicos han demostrado diferente virulencia en modelos animales. Es de importancia la caracterización biológica de los aislados detectados en humanos de Argentina a fin de relacionar los genotipos de *T. gondii* con rutinas diagnósticas de la mujer embarazada, con el seguimiento del recién nacido y así orientar planes de control.

9 - MECANISMOS MOLECULARES ACTIVADOS POR INTERACCIÓN DE LOS ANTICUERPOS CONTRA LAS PROTEÍNAS RIBOSOMALES P DE T. CRUZI SOBRE LOS RECEPTORES CARDÍACOS

Laura M Tasso⁽¹⁾, Alejandro F Benatar⁽²⁾, Magalí C Girard⁽³⁾, Gonzalo R Acevedo⁽⁴⁾, Gonzalo Greif⁽⁵⁾, Carlos Robello⁽⁶⁾, Karina A Gómez⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾ *Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas. INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina.* ⁽⁵⁾⁽⁶⁾ *Unidad de Biología Molecular. Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay.*
E-mail: lauratasso79@yahoo.com.ar

Los anticuerpos dirigidos contra las proteínas ribosomales P (Ac anti-P) de *T. cruzi*, en particular aquellos dirigidos contra la región C-terminal de estas proteínas, presentan reactividad de cruce con el segundo rulo extracelular de los receptores β_1 adrenérgicos (β_1 AR) presentes en la célula cardíaca. La interacción de los Ac anti-P con los receptores induce aumento de AMPc, cambios en la frecuencia de latidos, así como también apoptosis de los cardiomiocitos luego de 24 hs de estimulación. Para estudiar los mecanismos involucrados en la activación del β_1 AR, se utilizó un Ac monoclonal de cadena simple anti-P, denominado C5. Por Western-blot, demostramos que los Ac anti-P activan la vía “no clásica” del β_1 AR en las células cardíacas HL-1, la cual involucra la fosforilación de ERK 1/2 y P-38 (1,7 veces sobre el basal, $p < 0,05$), mientras que, otra de las vías no clásicas reportadas, la vía de CAMKII, no se vería alterada. Por otro lado, analizamos la expresión de genes por la técnica de microarray luego de la estimulación sostenida de las células HL-1 con el Ac anti-P C5 e isoproterenol (ISO), agonista del β_1 AR. Los resultados muestran 55 y 37 genes sobre-expresados, y 72 y 44 genes sub-expresados respecto del control (PBS), para C5 e ISO respectivamente (índice de cambio $\geq 1,5$, $p < 0,05$).

Algunos genes modificaron su expresión en igual sentido para ambos tratamientos, siendo 9 los genes sobre-expresados y 13 los sub-expresados. El análisis por Gene Ontology mostró, para los genes sobre-expresados en C5 un enriquecimiento en vías referidas a respuesta inmune, respuesta a daño, respuesta inflamatoria y actividad de quimioquinas. En relación al tratamiento con ISO, se encontró una disminución de la actividad traduccional al analizar los genes regulados en forma negativa. Nuestros resultados sugieren que los Acs anti-P de *T. cruzi*, al igual que otros Acs anti- β 1AR descritos en patologías cardíacas como cardiopatía idiopática dilatada, inducen una conformación activa distinta del receptor que conduciría a la activación de vías de señalización y por consiguiente, de genes diferentes a los involucrados luego de la interacción del receptor con sus agonistas clásicos. Este hallazgo podría contribuir a entender la patogénesis de la cardiopatía durante la Enfermedad de Chagas crónica, así como al diseño de estrategias terapéuticas.

10 - PALMITOILACIÓN DE PROTEÍNAS EN *Trichomonas vaginalis*

Romina Y Nievas, María Corvi, Natalia de Miguel –INTECH.

E-mail: romina_nievas@intech.gov.ar

Trichomonas vaginalis es un patógeno causante de la infección de transmisión sexual más común en el mundo entero: tricomoniasis. Si bien las infecciones a menudo son asintomáticas, en los casos que causa síntomas, estos incluyen vaginitis o uretritis. A su vez, si la infección persiste en el tiempo, puede causar complicaciones severas, como infertilidad, parto prematuro, aumento en la susceptibilidad a HIV y en la incidencia de cáncer cervical y prostático. Debido a que *T. vaginalis* es un parásito extracelular obligado, la adherencia a las células epiteliales es esencial para su supervivencia en el hospedador. Una mejor comprensión de este proceso es importante para desarrollar terapias para combatir la infección. En este sentido, trabajos recientes han implicado la S-palmitoilación como una modificación post-traduccional (MPT) clave en la regulación del proceso de infección de diferentes parásitos protozoos, como *Plasmodium* ssp, *Trypanosoma*

ssp, *Giardia* ssp y *T. gondii* así como también un proceso esencial de regulación de la adherencia a la célula hospedadora en el hongo *C. neoformans*. La S-palmitoilación implica la unión mediante un enlace covalente de palmitato al residuo Cys de una proteína, tanto citosólica como de membrana. Esta adición provoca un cambio en la hidrofobicidad de la misma que puede afectar en consecuencia su estabilidad, interacción, conformación, asociación con membranas, actividad enzimática, expresión de genes e incluso la red epigenética. Interesantemente, el análisis de la base de datos del genoma de *T. vaginalis* sugiere la ausencia de los genes involucrados en la vía de síntesis del ancla-GPI (glicofosfatidilinositol) y predice 16 Palmitoil Acil Transferasas putativas. Esta observación realza la importancia de entender la función de la palmitoilación en *T. vaginalis*. Con este fin, realizamos un análisis proteómico completo de proteínas palmitoiladas en el parásito, e identificamos 504 proteínas involucradas en variedad de funciones que incluyen transporte de proteínas, adherencia, señalización, respuesta a estrés, metabolismo y expresión de genes. Interesantemente, el tratamiento de los parásitos con el inhibidor de palmitoilación 2-Bromopalmitato causó una reducción en la agregación y adherencia de los parásitos a la célula hospedadora, demostrando por primera vez que la palmitoilación es un proceso que regula la adherencia de trichomonas a la célula hospedadora, proceso clave para el establecimiento y desarrollo de la infección

11 - DISTRIBUCIÓN TISULAR DE LINAJES DE *T. cruzi* LUEGO DE DISTINTOS TRATAMIENTOS TRIPANOCIDAS DURANTE LA ETAPA AGUDA DE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL

Mariana Strauss⁽¹⁾, Juan C Ramírez⁽²⁾, Silvina Lo Presti⁽³⁾, Carolina Bazán⁽⁴⁾, Alejandra L Báez⁽⁵⁾, Patricia Paglini⁽⁶⁾, Alejandro Schijman⁽⁷⁾, Walter Rivarola⁽⁸⁾

(1)(3)(4)(5)(6)(8) Instituto de Investigaciones en Cs. de la Salud (INICSA) Facultad de Cs. Médicas. UNC..^{(2)(7) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Hector N Torres” (INGEBI). E-mail: marianastr86@gmail.com}

En modelos de infección experimental con *T. cruzi* para evaluarla efectividad de fármacos, la utilización de aislamientos naturales permite una mejor representación de lo que realmente ocurre en pacientes de área endémica. El conocimiento sobre la complejidad de *T. cruzi* es esencial para determinar los aspectos que intervienen en el tropismo tisular del parásito, las manifestaciones clínicas, y la resistencia a drogas. Varios estudios experimentales han indagado sobre las propiedades biológicas de los diferentes linajes por separado, pero pocos se han centrado en la utilización de aislamientos naturales. El objetivo del presente trabajo fue tipificar el aislamiento Casibla (obtenido de un paciente con Chagas congénito proveniente de área endémica) en sangre, músculo cardíaco y músculo esquelético de ratones infectados y tratados con benznidazol (BZ) y clomipramina (CLO), en la etapa aguda de la infección. Se infectaron 36 ratones y se los dividió en los siguientes grupos: infectados no tratados (INT), tratados con: CLO 1,25mg/kg/día (CLO1,25), CLO 5mg/kg/día (CLO5), BZ 100mg/kg/día (BZ100), BZ 6,25mg/kg/día (BZ6,25) y BZ6,25+CLO1,25 (n=6 en cada grupo). La eficacia del tratamiento se evaluó a través del estudio de la sobrevida hasta los 35 días post infección y la cuantificación de los parásitos en sangre mediante PCR en tiempo real (qPCR) (test de Fisher). La tipificación se realizó por qPCR con sondas TaqMan dirigidas a las regiones SL-IR, 18S, COII y 24S α , seguida de la amplificación del fragmento genómico A10 de *T. cruzi*. Todos los esquemas de drogas utilizados, disminuyeron la carga parasitaria en relación al grupo INT (P<0,05) y presentaron mayor sobrevida que el grupo INT. Se encontró que el aislamiento Casibla está compuesto por una mezcla de linajes TcII y TcVI. La distribución de los linajes en los tejidos infectados no fue homogénea, encontrándose variaciones entre los animales analizados. En músculo cardíaco del grupo BZ6,25+CLO1,25 se encontró sólo el linaje TcVI, mientras que en los INT ambos linajes estaban presentes. En algunos casos TcVI presentó una curva de melting típica de TcII que requiere mayor análisis, actualmente en proceso.

El linaje TcVI sería aparentemente más resistente a la acción de las drogas, ya que fue el linaje que se encontró en la mayoría de los casos después de los tratamientos realizados. Para valorar la efectividad de la terapéutica se debería tener en

cuenta la variabilidad que posee *T. cruzi* y la susceptibilidad de los diferentes linajes.

12 - THE PROTEIN TcHTE OF *Trypanosoma cruzi* IS INVOLVED IN HEME TRANSPORT

Lucas Pagura, Brenda A Cirulli, Marcelo L Merli, Julia A Cricco

IBR.E-mail: pagura@ibr-conicet.gov.ar

Trypanosoma cruzi carece de todas las enzimas de la vía de biosíntesis de hemo, por lo que debe incorporarlo desde los diferentes hospedadores durante su ciclo de vida. En nuestro laboratorio estamos interesados en elucidar los mecanismos de transporte de hemo en el parásito. En estudios previos hemos utilizado diferentes análogos fluorescentes de hemo (HAs, derivados de protoporfirinas y mesoporfirinas), para caracterizar los estadios donde ocurre el transporte. Dichos compuestos no pueden ser metabolizados por el parásito y produjeron diferentes efectos en el crecimiento de epimastigotes. Estos resultados indicaron que *T. cruzi* es capaz de incorporar selectivamente estos análogos durante los estadios replicativos (epimastigote y amastigote) pero no en el estadio infectivo (tripomastigote), sugiriendo que el transporte de hemo procede principalmente durante los estadios replicativos (Merli, 2016). Recientemente hemos identificado a la proteína TcHTE, que se localiza en el bolsillo flagelar del parásito, la cual estaría involucrada en el transporte de hemo (Merli, 2016). La presencia y abundancia de TcHTE en epimastigotes se vio afectada por la disponibilidad de hemo en el medio de cultivo, detectada por ensayos de Western blot utilizando anticuerpos específicos para la proteína en extractos totales de epimastigotes crecidos en 0, 5 y 20 μ M de hemina. También la presencia de HAs afectó selectivamente la presencia de TcHTE en epimastigotes. Los niveles de transcripto del gen que codifica para TcHTE se evaluaron en epimastigotes por qPCR observándose que estos fueron afectados por la disponibilidad de hemo en el medio de cultivo, siendo mayor a menor concentración de hemina en el medio. Por otro lado, TcHTE pudo ser detectada principalmente en los estadios de epimastigotes y amastigotes, donde se produciría transporte de hemo, y en menor grado en tripomastigotes. Los resultados obtenidos indican que *T. cruzi* presenta un

sistema selectivo para el transporte de hemo y que dispondría de algún mecanismo intracelular para detectar los niveles de hemo intracelular (que dependerá de la disponibilidad en el medio), regulando los niveles del transcrito de TcHTE como así también los niveles de proteína presente para optimizar el transporte del cofactor. Merli ML, Pagura L, et al. (2016) *The Trypanosoma cruzi Protein TcHTE Is Critical for Heme Uptake*. PLoS Negl Trop Dis 10(1): e0004359. doi:10.1371/journal.pntd.0004359.

13 - DISRUPCIÓN DEL GEN H2AZ DE TOXOPLASMA GONDII MEDIANTE EL SISTEMA CRISPR/CAS9

Sebastián Balerini, Laura Vanagas, Agustina Ganuza, Sergio O. Angel

Laboratorio de Parasitología Molecular, IIB-INTECH, CONICET-UNSAM, Av. Intendente Marino Km. 8.2, C.C 164, (B7130IIWA), Chascomús, Prov. Buenos Aires, Argentina.

E-mail: sfbalerini@gmail.com

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado del Phylum Apicomplexa causante de la toxoplasmosis. Los moduladores epigenéticos y la alteración de la estructura de la cromatina son muy importantes en la regulación de la expresión génica, la replicación y el mecanismo de reparación del ADN. Las histonas canónicas y variantes son componentes principales de la cromatina en células eucariotas y pueden modificar su estructura para conferir funciones especializadas. H2A.Z es una histona variante que conforma nucleosomas con H2B.Z en *T.gondii*, posicionándose mayormente en promotores de regiones génicas transcripcionalmente activas. Ambas histonas son modificadas post-traduccionalmente y creemos que esta regulación epigenética es fundamental para su función vital. En especies como *Drosophila melanogaster* y *Tetrahymena thermophila* la H2A.Z es esencial para su desarrollo pero no en levaduras, en donde ayuda a regular funciones cromosomales y morfológicas, y su ausencia perjudica el crecimiento en medios de cultivo específicos. Nuestro objetivo principal es determinar la importancia biológica de esta histona variante en *T.gondii*, para lo cual pretendemos realizar la disrupción génica

mediante el sistema CRISPR/CAS9. Para esto, se diseñaron sgrNAs de 20-40 nucleótidos del marco de lectura abierto del gen H2A.Z, que contuvieran el PAM (NGG) y el sitio de restricción de Bsal. Se clonaron en el vector pU6 CRISPR Universal mediante el sitio de restricción Bsal en un medio selectivo con ampicilina. Los clones obtenidos se chequearon por PCR y secuenciación. Se transfectaron parásitos de la cepa Prugniaud (tipo II) o RH (tipo I) mediante electroporación. La proporción de parásitos con disrupción génica fue analizada por Inmunofluorescencia Indirecta. Se observó que los parásitos KO para H2A.Z manifiestan dificultades en la replicación, contabilizándose vacuolas de no más de 16 parásitos siendo en su mayoría de 2 y 4 parásitos, a las 48hs post-infección. En ese mismo intervalo las vacuolas de parásitos sin disrupción génica (WT) presentan un estadio de crecimiento entre 32 y 64 parásitos en su conjunto. A las 72 y 96 h post-infección ya no se localizan parásitos KO y los WT se muestran propagados por toda la monocapa celular luego de repetidos ciclos líticos. Por lo tanto, la histona H2A.Z cumpliría un rol esencial en la supervivencia del parásito, y su ausencia dificulta la replicación.

14 - “TCLP1, una nueva proteína del bolsillo flagelar homóloga a chaperonas bacterianas e implicada en el crecimiento de formas replicativas de T. cruzi,”

Raúl Takada, María de los Milagros Cámara, Gabriel Briones, Carlos A Buscaglia, Ignacio M Durante

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SAN MARTÍN (IIB-UNSAM). E-mail: ignaciodurante@yahoo.com.ar

El bolsillo flagelar (BF) representa un sitio activo y estratégico en el cuerpo de los trypanosomatidos (TriTryps, parásitos protozoarios de gran importancia zoonótica) y es el único sitio para la exportación de proteínas de superficie y la adquisición de nutrientes, constituyendo un portal clave en la interacción con el hospedador. En este trabajo se presenta la identificación y caracterización de TCLP1 (Trypanosomatid CesT-Like Protein- 1), una nueva proteína de

Trypanosoma cruzi (*T. cruzi*) que se acumula en el BF de formas replicativas de acuerdo al análisis de su expresión endógena mediante diversas técnicas bioquímicas, inmuno-citoquímicas y de microscopía electrónica de transmisión. Diferentes análisis in silico revelan que TCLP1 es la fundadora de una familia de proteínas quiméricas conservadas en trypanosomátidos que poseen dominios ubiquitin-like (ULD), dominios de interacción proteína- proteína (PDZ), y un dominio con similitud estructural a chaperonas de bacterias enteropatógenas implicadas en la exportación de efectores de virulencia a través del sistema de secreción de tipo III (T3SS). Este dominio está además funcionalmente conservado y es capaz de revertir los efectos de la delección de la chaperona homóloga SicP de *Salmonella thymphimurium* LT2 sobre la secreción T3SS dependiente del efector SptP por esta enterobacteria. En *T. cruzi*, y a través de la generación de un sistema de expresión homólogo se confirmó la presencia de TCLP1 en compartimentos anteriores asociados al BF, y se determinó que su sobre-expresión en parásitos genera una disminución en la supervivencia y una progresión acelerada hacia la fase estacionaria tardía en condiciones de hambre. Ensayos de endocitosis muestran además que estos efectos se deberían al menos en parte a un defecto en la adquisición de nutrientes debido a una tasa endocítica reducida. Debido a su localización estratégica en el cuerpo de *T. cruzi*, la conservación funcional de dominios de origen procarióticos exclusivos y sus funciones putativas, proponemos el estudio de TCLP1 y sus ortólogos relacionados en los TriTryps dada su importancia tanto desde el punto de vista evolutivo como de intervención frente a estos trypanosomátidos de suma relevancia sanitaria.

15 - ESTUDIO DE LA NUCLEÓSIDO DIFOSFATO QUINASA 1 DE *Trypanosoma cruzi* Y SU PARTICIPACIÓN EN MECANISMOS DE REPARACIÓN DEL ADN

Melisa M Sayé, Chantal Reigada, Edward Valera-Vera, Fabio diGirolamo, Claudio A Pereira, Mariana R Miranda

Laboratorio de Parasitología Molecular, IDIM-CONICET. E-mail: melisa.msaye@hotmail.com

Las nucleósido difosfato quinasa (NDPK) son enzimas que intervienen en la homeostasis intracelular de nucleótidos di- y trifosfato. Son enzimas multifuncionales puesto que participan en numerosos procesos celulares como apoptosis, transducción de señales y reparación de ADN, entre otros. La NDPK1 de *Trypanosoma cruzi* (TcNDPK1), es la única isoforma canónica presente en el parásito, la cual es secretada, está involucrada en la resistencia a drogas tripanocidas y tiene la capacidad de unirse y degradar ácidos nucleicos in vitro. En el presente trabajo, evaluamos la participación de la NDPK en mecanismos de reparación de ADN mediante su expresión en sistemas heterólogos. En primera instancia, determinamos que la frecuencia de mutación espontánea de bacterias que expresan la TcNDPK1, obtenida mediante la selección de colonias resistentes a rifampicina, se redujo 5 veces respecto del control, siendo una primera evidencia de su posible función en la reparación del ADN. Para seguir evaluando dicha actividad, expresamos la enzima en un modelo de levaduras que carece del gen endógeno de la NDPK. Estas levaduras presentaron un crecimiento más eficiente que las levaduras control. Asimismo el tratamiento con agentes genotóxicos como el peróxido de hidrógeno demostró que sobreviven a altas concentraciones del mismo, siendo la IC50 significativamente superior respecto del control, 21.2 mM y 6.3 mM respectivamente. Por último, se evaluó el efecto de la radiación UV y se encontró que estas levaduras presentan mayor supervivencia al daño generado. Los resultados mostrados sugieren que la TcNDPK1 podría estar involucrada en la maquinaria de reparación de ADN, un nuevo rol que se incorpora a las múltiples y diversas funciones que desempeña.

16 - ESTUDIO DE RETINOIDES COMO INHIBIDORES DEL TRANSPORTE DE POLIAMINAS Y AMINOÁCIDOS EN *Trypanosoma cruzi*

Chantal Reigada⁽¹⁾, Edward A Valera-Vera⁽²⁾, Carla C Avila⁽³⁾, Melisa M Saye⁽⁴⁾, Mariana R Miranda⁽⁵⁾, Claudio A Pereira⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾Laboratorio de Parasitología Molecular. IDIM-CONICET. ⁽³⁾Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de San Pablo,

Brasil..⁽⁶⁾ *Laboratorio de Parasitología Molecular.IDIM-CONICET.*
E-mail: chanreigada@hotmail.com

Las poliaminas son metabolitos esenciales para el crecimiento y diferenciación de las células. *Trypanosoma cruzi* es auxótrofo para putrescina y estas moléculas deben ser obtenidas exclusivamente del medio extracelular por mecanismos de transporte. Por lo tanto, el transportador de poliaminas es un interesante blanco terapéutico contra la enfermedad de Chagas. En el presente trabajo se identificó una droga tripanocida, usando el transportador de poliaminas de *T. cruzi* (TcPAT12), como blanco para el reposicionamiento de drogas mediante el empleo de técnicas in silico e in vitro. Se comenzó con una búsqueda por similitud partiendo del acetato de retinol como compuesto de referencia, el cual según reportes previos disminuye los niveles de poliaminas en *Leishmania* spp. Mediante el rastreo en una base de datos de 3,000 drogas aprobadas por la FDA se obtuvieron siete retinoides usados en medicina. Con estos compuestos y un modelo estructural del transportador TcPAT12 se realizó un análisis de "molecular docking". De la simulación computacional de interacción entre TcPAT12 y los retinoides como ligandos, se seleccionó para realizar los ensayos in vitro a la isotretinoína, una droga usada para el tratamiento de acné. Se demostró que esta droga no solo inhibió el transporte de poliaminas sino también el transporte de aminoácidos de la misma familia, denominada TcAAAP. Los valores de IC50 calculados para putrescina, lisina, prolina y una mezcla de 15 aminoácidos se encontraron en el rango 4,6-10,3 μ M. La isotretinoína no produjo una inhibición significativa sobre los transportadores no relacionados con los de la familia TcAAAP. Este retinoide presentó actividad tripanocida en el estadio tripomastigote, con una IC50 de 130 nM mientras que en epimastigotes la IC50 fue significativamente mayor (30,6 μ M). También se estudió si el efecto de la isotretinoína podría deberse a una desestabilización de la membrana plasmática del parásito, pero no se observó ningún cambio en esta estructura. Tampoco la droga afectó la viabilidad de células de mamíferos. En conclusión, estos resultados demuestran que la isotretinoína puede inhibir el transporte de metabolitos esenciales y posee una actividad tripanocida en el rango nM siendo una

droga prometedora para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

17 - IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS INHIBIDORES DE BROMODOMINIOS DE *Trypanosoma cruzi* A PARTIR DE PRODUCTOS NATURALES MODIFICADOS

Victoria L Alonso⁽¹⁾, I Ayelen Ramallo⁽²⁾, Federico Rua⁽³⁾, Esteban Serra⁽⁴⁾, Ricardo Furlan⁽⁵⁾

⁽¹⁾Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario.
⁽²⁾⁽³⁾⁽⁵⁾Instituto de Investigaciones para el Descubrimiento de Fármacos de Rosario (IIDEFAR). Universidad Nacional de Rosario.
⁽⁴⁾Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET). E-mail: alonso@ibr.gov.ar

Los Bromodominios son los únicos dominios proteicos capaces de reconocer e interactuar con lisinas acetiladas. *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la Enfermedad de Chagas, presenta un bromodominio atípico (denominado TcBDF3) capaz de interactuar con la α -tubulina acetilada presente en el citoesqueleto de este organismo. No existen reportes en otros eucariotas de Bromodominios con funciones fuera del núcleo, lo que hace a TcBDF3 un interesante blanco para el desarrollo de nuevas drogas tripanocidas. Recientemente, se han descrito nuevos compuestos inhibidores de Bromodominios humanos para el tratamiento de distintas patologías, demostrando que se trata blancos quimioterapéuticos válidos. Nos planteamos buscar quimiotipos capaces de interrumpir la interacción entre TcBDF3 y α -tubulina acetilada a partir de bibliotecas de productos naturales químicamente modificados y evaluar su potencial tripanocida en todos los estadios del ciclo de vida de *T. cruzi*. Contamos con un ensayo de atenuación de la fluorescencia en microplacas de 96 pocillos. El fundamento del método se basa en la modificación de la fluorescencia de triptófanos debida a la interacción de la proteína con un ligando ya que TcBDF3 presenta un triptofano en su bolsillo de unión al ligando acetilado. Con este ensayo se evaluó la presencia/ausencia de compuestos que se unen a TcBDF3 en 19 extractos diversificados químicamente pertenecientes a diferentes

especies vegetales. Los mismos se prepararon sometiendo a reacción con exceso de clorhidrato de hidroxilamina en etanol reflujo por 4 hs a los respectivos extractos metanólicos. El extracto modificado de *Paspalum dilatatum* Poir (Poaceae) fue el que presentó mayor bioactividad. Su fraccionamiento bio guiado llevó al aislamiento e identificación de la oxima del (E)-4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído como responsable de la actividad observada. Luego se corroboró la interacción de este compuesto con TcBDF3 mediante Thermal Shift y se calculó la constante de disociación de esta interacción (0.3 μ M). Por otro lado, se evaluó la actividad tripanocida de este compuesto en epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes de *T. cruzi*, obteniéndose CI50 entre 5 y 10 μ M según el estadio y un índice de selectividad de 6 sobre la línea celular Vero. Podemos concluir que TcBDF3 es un blanco quimioterapéutico interesante y el compuesto encontrado puede ser un punto de partida para la búsqueda de inhibidores con mejores actividades tripanocidas.

18 - CROMOSOMAS ARTIFICIALES COMO PLATAFORMA PARA LA EXPRESIÓN DEL SISTEMA CRISPR/CAS9 EN *Trypanosoma cruzi*

Matías Romero Victorica⁽¹⁾, Guillermo D. Alonso⁽²⁾, Alejandro G. Schijman⁽³⁾, María de los Ángeles Curto⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGEBI. ⁽²⁾Laboratorio de Regulación Metabólica en *Trypanosomátidos*, INGEBI.

E-mail: matiromerov@hotmail.com

El avance en el conocimiento de la biología básica de los tripanosomátidos ha sido posible, en gran medida, gracias al desarrollo de herramientas de manipulación genética. Los vectores disponibles incluyen constructos que se integran al genoma y aquellos que permanecen como episomas. Recientemente ha despertado gran interés el sistema CRISPR/Cas9 que funciona como un "sistema inmune" en bacterias que se ha utilizado para la edición de genomas en diversos organismos. Dado que *T. cruzi*, a diferencia de otros tripanosomátidos, no posee un mecanismo de silenciamiento por ARN de interferencia, éste nuevo sistema CRISPR/Cas9 resulta particularmente atractivo. El vector pTREX

fue el primer sistema abordado para la expresión de la nucleasa Cas9 en *T. cruzi*; sin embargo, sus elevados niveles de expresión determinaron que ésta construcción resultara tóxica para el parásito. Anteriormente hemos desarrollado un cromosoma artificial, denominado pTAC, que además de tener secuencias teloméricas posee algunas características interesantes: capacidad de mantenerse sin selección, no integrarse al genoma, no contener promotores y presentar niveles de expresión fisiológicos. Es por ésta razón que decidimos comparar el desempeño de líneas de *T. cruzi* transfectadas con la construcción pTREX/Cas9 con respecto a pTAC/Cas9. Además pusimos a prueba el sistema CRISPR transfectando epimastigotes con las construcciones pTREX/Cas9/PFR2 y pTAC/Cas9/PFR2, direccionando la actividad de la nucleasa Cas9 al gen que codifica para uno de los componentes del entramado paraflagelar. Se amplificaron 2 fragmentos, Cas9 y Cas9/sgPFR2, a partir de los vectores Cas9/pTREX-n y sgPFR2/Cas9/pTREX-b respectivamente, cedidos gentilmente por el Dr. R. Docampo (University of Georgia, Athens, U.S.A.), utilizando oligonucleótidos con secuencias conteniendo el sitio de restricción KpnI. Los fragmentos de 5,5 y 5,6kb respectivamente se clonaron en vectores pGEM-T Easy. Se digirieron ambos pTAC y pGEM-T/Cas9 con KpnI, para luego ligar los fragmentos conteniendo Cas9 al cromosoma artificial. Ya ligados, se realizó una PCR para verificar la correcta orientación de los insertos, se linealizaron digiriendo con HindIII y se transfectaron epimastigotes de *T. cruzi* correspondientes a Las unidades discretas de tipificación TcI y TcVI. Las poblaciones transfectadas están bajo el proceso de selección, luego del cual se procederá a la evaluación de sus fenotipos.

19 - RECONSTITUTION OF THE MITOCHONDRIAL CALCIUM UNIPORTER (MCU) IN *Trypanosoma cruzi* KNOCKOUT EPIMASTIGOTES

Miguel A Chiurillo⁽¹⁾, Noelia Lander⁽²⁾, Mayara Bertolini⁽³⁾, Anibal Vercesi⁽⁴⁾, Roberto Docampo⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (São Paulo), Brasil. ⁽⁵⁾Center for Tropical and

Emerging Global Diseases, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA y Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (São Paulo), Brasil.

E-mail: mchiurillo@yahoo.com

Trypanosoma cruzi —the etiologic agent of Chagas disease— possesses a mitochondrial calcium uniporter (TcMCU) with similar characteristics to those of mammalian mitochondria. We have demonstrated in MCU knockout *T. cruzi* epimastigotes (TcMCU-KO) obtained by CRISPR/Cas9 system that mitochondrial calcium uptake depends on MCU in *T. cruzi*, MCU predicted structure displays two transmembrane helices separated by a highly conserved linker facing the intermembrane space (DIME motif), which contains acidic residues required for its full activity. In this work our aim was to determine whether it was possible to restore the MCU activity by reinserting the TcMCU gene into TcMCU-KO cells. Moreover, we analyzed the impact of point mutations in conserved amino acids near and within the DIME motif in MCU-mediated calcium uptake. For this, we amplified a mutated version of the TcMCU gene in which the protospacer adjacent motif (PAM) sequence originally used in our strategy to generate a CRISPR/Cas9-mediated TcMCU-KO cell line was modified to avoid the DNA break produced by Cas9. This modified gene sequence was cloned into pTREX-h vector and used to transfect TcMCU-KO epimastigotes. We also introduced point mutations in TcMCU gene to generate two mutant cell lines: D223N/E226Q and R214W/D219V. Calcium transport as well as growth phenotype in low glucose medium were restored by expression of the reinserted TcMCU gene. Mutant D223N/E226Q failed to restore mitochondrial calcium uptake indicating that these highly conserved acidic residues are critical for calcium transport. Moreover, R214W/D219V changes, which are expected to be critical amino acid substitutions in the pore region of the mammalian MCU paralogue MCUB, determining its reported dominant-negative effect, were able to rescue of MCU-KO phenotype. Finally, overexpression of the TcMCUB paralogue in TcMCU-KO epimastigotes did not restore the mitochondrial calcium uptake. Our results confirm that conserved D223 and E226 of the DIME motif of TcMCU are critical for MCU-mediated calcium

uptake. Furthermore, this work supports our previous results indicating that MCUB does not act as negative regulator of MCU complex in *T. cruzi*, Work funded by FAPESP N° 2013/50624-0, 2011/50400-0 and 2014/13148-9.

20 - THE TcIP3R LOCALIZES TO ACIDOCALCISOMES AS CONFIRMED BY CRISPR/CAS9-MEDIATED ENDOGENOUS C-TERMINAL TAGGING IN *Trypanosoma cruzi*

Noelia Lander⁽¹⁾, Miguel A Chiurillo⁽²⁾, Melissa Storey⁽³⁾, Aníbal E Vercesi⁽⁴⁾, Roberto Docampo⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo - Brasil. . ⁽³⁾Center for Tropical and Emerging Global Diseases, The University of Georgia. Athens, GA - USA.. ⁽⁵⁾Center for Tropical and Emerging Global Diseases, The University of Georgia. Athens, GA - USA; and Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo - Brasil.

E-mail: noelia2309@hotmail.com

The inositol-1,4,5-trisphosphate receptor (IP3R) is a calcium channel activated by inositol trisphosphate (IP3) that represents a dominant second messenger leading to calcium release from intracellular stores. Although most vertebrate IP3Rs reside in endoplasmic reticulum (ER) membranes, IP3 can stimulate calcium release from the Golgi complex, the nucleus, and the secretory granules of mammalian cells. IP3Rs can also be targeted to the plasma membrane, where they are important for calcium entry. TcIP3R was reported to have ER localization in *T. cruzi*, However, the immunofluorescence evidence reported, corresponding to epimastigotes overexpressing the TcIP3R, has been disputed. In addition, the *T. brucei* IP3R localizes to the acidocalcisomes. In this work we elucidated the disputed localization of TcIP3R and confirmed that it localizes to acidocalcisomes. Methods for genetic manipulation of *T. cruzi* have been highly inefficient and no endogenous tagging of genes has been reported to date. Here we used the CRISPR/Cas9 system for endogenously tagging five genes in this parasite. The utility of the method was established by tagging genes encoding proteins of known localization such as the flagellar calcium binding protein (TcFCaBP),

and the vacuolar proton pyrophosphatase (TcVP1), and three proteins of undefined or disputed localization, involved in calcium signaling, the pyruvate dehydrogenase phosphatase (TcPDP), the mitochondrial calcium uniporter (TcMCU), and the TcIP3R. We confirmed the flagellar and acidocalcisome localization of TcFCaBP and TcVP1 by co-localization with antibodies to the flagellum and acidocalcisomes, respectively. As expected, TcPDP and TcMCU were co-localized with the voltage-dependent anion channel (VDAC) to the mitochondria. Finally, endogenously tagged TcIP3R showed co-localization with antibodies against VP1 to acidocalcisomes, in contrast to previous reports of ER localization, and our own results using overexpressed TcIP3R. These results are also in agreement with our previous reports on the localization of this channel to acidocalcisomes of *T. brucei* and suggest that caution should be exercised when overexpression of tagged genes is done to localize proteins in *T. cruzi*. Work funded by: FAPESP N° 2013/50624-0, 2011/50400-0 and 2014/08995-4.

21 - IDENTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS QUE SE ASOCIAN A TCCALI, UNA PROTEÍNA HIPOTÉTICA DE UNIÓN A CALCIO EXPRESADA EN *Trypanosoma cruzi*

Mariana Potenza, Diana P Wehrendt, María T Tellez-Iñón

INGEBI. E-mail: potenza@dna.uba.ar

Las variaciones intracelulares del ión calcio (Ca⁺⁺) juegan un papel fundamental en procesos claves del ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*. Durante la invasión a células de mamífero, la concentración intracelular de Ca⁺⁺ de *T. cruzi* aumenta transitoriamente como consecuencia de la adhesión a la membrana externa de la célula hospedadora. En la diferenciación de las formas no infectivas (epimastigotes), hacia las infectivas (tripomastigotes) también se observan cambios en los niveles de Ca⁺⁺, que involucran la activación de señales mediadas por este ión. Sin embargo, el conocimiento de la decodificación y la traducción de las señales mediadas por Ca⁺⁺ en *T. cruzi* es escaso. El genoma de este parásito codifica para varios canales y proteínas de unión a Ca⁺⁺, aunque la mayoría permanecen sin

caracterizar. Existe también evidencia experimental de expresión de proteínas con dominio de unión a Ca⁺⁺ denominadas hipotéticas o nuevas. Estas proteínas presentan dominios específicos de secuencia que no muestran similitud significativa con aquellas expresadas en las células de mamífero que parasitan y por lo tanto, no tienen función putativa asignada. En un trabajo previo identificamos a una proteína hipotética con dominio de unión a Ca⁺⁺ TcCALI, que se expresa en todas las formas del parásito *T. cruzi*. Con el objetivo de conocer las proteínas que interaccionan con TcCALI in vivo se realizó un ensayo de doble híbrido. Como resultado, se identificaron dos proteínas, ambas anotadas como hipotéticas. Una de ellas corresponde a una proteína con homología a prefoldinas (TcCLB.506925.190) y otra que contiene un dominio tipo ARM, por "armadillo" (TcCLB.511421.200). Este último consta de una secuencia repetitiva de 40 aminoácidos de longitud que se asocian para formar estructuras alfa hélice superpuestas. En algunas proteínas, estos dominios son importantes en la liberación de calcio del retículo endoplasmático en pos de regular los niveles intracelulares de este ión. Luego de corroborar la especificidad de estas interacciones (controles de interacción específica), se estudiará la co-localización de TcCALI y sus moléculas de unión durante los procesos de diferenciación e infección de *T. cruzi* en células de mamífero. El estudio de estas nuevas proteínas permitirá avanzar en el conocimiento de las señales mediadas por Ca⁺⁺ propias de este patógeno.

22 - IDENTIFICATION AND STUDY OF A PUTATIVE CATALYTIC SUBUNIT AMPK α IN TRYPANOSOMA BRUCEI AND *Trypanosoma cruzi*

Patricio Genta, Tamara Sternlieb, Guillermo D Alonso, Alejandra C Schoijet

INGEBI. E-mail: aschoijet@gmail.com

AMPK is an heterotrimer evolutionarily conserved enzyme that typically functions as a metabolic sensor and generates changes in energy homeostasis, through transcriptional and metabolic reprogramming. This energy sensing is crucial in protozoa such as *Trypanosoma cruzi*,

which must go through sudden changes in the environment during the passage through its different stages. AMPK can also either directly or indirectly influence other cellular processes such as regulating mitochondrial function, autophagy, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis. This protein kinase is composed of the catalytic subunit α and two regulatory subunits β and γ . In *Trypanosoma brucei* AMPK β and γ subunits have been identified and it was shown that they are involved in surface protein expression changes in response to nutritional stress. Nevertheless, the α subunit couldn't yet be found in this parasite. Using conserved domains and secondary structure analysis, we have been able to identify candidate genes for the catalytic subunit of AMPK α in *T. brucei* and *T. cruzi*, named TbAMPK α and TcAMPK α respectively. In the present work we report the cloning and partial characterization of TbAMPK α . The amino acid sequence of TbAMPK α shows a high identity with the putative TcAMPK α of *T. cruzi* and TvAMPK α of *T. vivax*, but is not well conserved in other AMPK α orthologues such as human, *S. cerevisiae* and rat. We analyzed the sequence of *T. brucei* through Conserved Domain tool and found that it has the same type of catalytic domain of the AMPK protein family. It is a protein domain with triple catalytic action: serine, threonine and tyrosine kinase. In addition, the analysis using the SAS FASTA tool revealed a high similarity between the kinase catalytic domains of TbAMPK α and the alpha subunit of human AMPK, but throughout the rest of the sequence, the similarity is poor. The TbAMPK α sequence was amplified by PCR, its identity confirmed by sequencing and subcloned into the pDEST15 expression vector fused to GST at its N-terminus. The expression of the recombinant protein was confirmed by Western blot assays and afterward the protein was glutathione-based affinity purified. On the other hand, we have also amplified and subcloned into the pRIBOTEX vector the putative orthologous gene of *T. cruzi* (TcAMPK α). Future studies using transgenic parasites will allow us to evaluate its subcellular localization as well as its biological role in the parasite.

23 - ROLE OF ALANINE RACEMASE IN TRYPANOSOMA AND ANTIPARASITIC EFFECT OF NEW CLASS OF ALANINE RACEMASE INHIBITORS

Richard MBM Girard⁽¹⁾, Lisvane Paes⁽²⁾, Pereira, C.A⁽³⁾, Marcelo Santos da Silva⁽⁴⁾, Raphael Pavan⁽⁵⁾, Maria Carolina Elias⁽⁶⁾, Ariel Mariano Silber⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽⁷⁾USP. ⁽²⁾UFRJ.⁽³⁾CONICET.⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾Instituto Butantan. E-mail: r.girard02@gmail.com

In trypanosomes, L-amino acids have, in addition to its classical role on protein synthesis, various functions including, not exhaustively: energy metabolism, osmoregulation, resistance to thermal and oxidative stress. Nevertheless, D-amino acids are not found as part of the primary structure of proteins and their biological functions remain elusive in parasites. In *T. cruzi* and *T. vivax*, the proline racemase (PR) are involved in host cells infection and was describe, as a potent mitogen. The occurrence of D-Alanine and an Alanine Racemase (AR) activity was also described in *Leishmania amazonensis*. Two copies of putative AR gene in *T. cruzi* (respectively 1,167 bp (TcAR A) and 759 bp (TcAR B)) and one in *T. brucei* have been identified. In silico analysis suggests that AR critical residues, involved in binding the cofactor pyridoxal 5'-phosphate (PLP) and racemization between L-and D-alanine, are conserved in both *T. cruzi* and *T. brucei*. AR specific activity was measured in different developmental stages of *T. cruzi* and in *T. brucei* procyclic forms (PCF). AR activity was higher in epimastigotes and metacyclic trypomastigotes forms compared to amastigotes, trypomastigotes and intracellular epimastigotes. TcAR A were cloned and expressed as recombinant product (rTcAR A). rTcAR A showed a MW of 43 kDa, and Vmax and Km values of 21.5 ± 6.04 mM and 60 ± 6.7 μ mol/min.mg. Immunofluorescence with a specific anti-rTcAR serum showed a cytoplasmic localization for TcAR A. We decided to evaluate C3 which belong to a new class of AR inhibitors against *T. cruzi* and *T. brucei*. C3 reduced: rTcAR A activity; *T. cruzi* epimastigotes, procyclic and bloodstream forms growth; well as to induce phosphatidylserine exposure, DNA damage, deregulation of ROS, cytosolic Ca²⁺ and mitochondrial membrane potential in *T. cruzi* epimastigote and procyclic forms. However, C3 do not produce cell cycle arrest in both organisms.

Furthermore, C3 impaired the intracellular life cycle of *T. cruzi* with a high selectivity index (SI) (>300). In conclusion, we were able to measure the rTcAr A kinetic parameters and the AR specific activity in both organisms. C3 treated parasites can undergo cell death that shares essential characteristics with apoptosis in higher eukaryotes and other protozoa. C3 seems to be an interesting candidate to explore a new treatment for Chagas disease and Human African trypanosomiasis.

24 - CARACTERIZACIÓN DE REGIONES NO TRADUCIDAS EN FAMILIAS PROTEICAS QUE PRESENTAN DIFERENCIAS EN LA EFICIENCIA TRADUCCIONAL EN *Trypanosoma cruzi*

Santiago Radío⁽¹⁾, Lorena Becco⁽²⁾, José Sotelo⁽³⁾, Beatriz Garat⁽⁴⁾, Pablo Smircich⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾Facultad de Ciencias Uruguay. ⁽³⁾Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

E-mail: sradio91@gmail.com

Trypanosoma cruzi es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, patología de alta prevalencia en América Central y del Sur. El parásito exhibe procesos moleculares distintivos y en particular, los mecanismos de expresión génica son excepcionales. Teniendo en cuenta que la regulación post-transcripcional es el principal nivel de control en tripanosomátidos, la determinación de los ARNm activamente traducidos es especialmente adecuada para analizar los perfiles de expresión génica en estos organismos. Análisis previos realizados por nuestro grupo sobre el traductoma han detectado diferencias significativas en los niveles de expresión y eficiencias traduccionales que permiten definir grupos de genes regulados específicamente a este nivel. Particularmente, dos familias resultaron fuertemente controladas a través de la modulación de su eficiencia traduccional: los genes que codifican las proteínas ribosomales y los genes pertenecientes a la superfamilia de las trans-sialidasas. Para poder ahondar en los mecanismos y señales que determinan estos procesos regulatorios creamos una herramienta bioinformática que nos permite determinar las regiones UTRs para el estudio en este y otros modelos relacionados. Esta herramienta, que denominamos UTRme (UTR mini-exón), permite a partir de datos de RNA-Seq

(paired-end) obtener las regiones no traducidas 5' y 3' de todos los genes presentes en la anotación genómica. El programa permite detectar cuál es el sitio de poliadenilación y de splice-leader más utilizado a través de un sistema de puntajes. La utilización de un puntaje nos permite ver el uso de sitios preferenciales según el estadio parasitario y determinar la confiabilidad de la determinación. Particularmente nos centramos en el uso de sitios preferenciales en las familias proteicas previamente nombradas. Además utilizamos esta información para buscar señales en las UTRs que puedan explicar la co-regulación observada, realizando análisis tanto a nivel de secuencia primaria como a nivel de estructura secundaria.

25 - ROLE OF INTRACELLULAR cAMP IN OXIDATIVE STRESS RESPONSES THROUGH *Trypanosoma cruzi* LIFE CYCLE

Tamara Sternlieb, Alejandra C. Schoijet, Patricio Genta, Salomé Vilchez Larrea, Guillermo D. Alonso

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI).

E-mail: tamara.sternlieb@gmail.com

Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) is a key second messenger in several metabolic pathways. In *Trypanosoma cruzi* it was found to participate in proliferation, differentiation and osmoregulation. Here we explore the role of cAMP in the response to oxidative stress in *T. cruzi* epimastigotes and trypomastigotes. To determine the role of cAMP in oxidative stress responses, we first set up the conditions for a proliferation measurement method using tritiated thymidine, based on the incorporation of the radioactive nucleotide during DNA replication. Through this technique, we established an optimal work concentration of hydrogen peroxide of 150 μ M, which presents a moderate effect on proliferation, allowing the recovery of the parasites' normal growth after 24 h. Our results suggest a possible protective role of cAMP over the hydrogen peroxide stressed cells, through the use of cAMP analogs (pCPT-AMPC and 8-Bromoadenosine 3',5'-cyclic monophosphate). We also generated transgenic parasite lines that overexpress different phosphodiesterases and assessed their involvement in these responses. In addition, we

evaluated these treatments on trypomastigotes through their viability and infectivity. Parasites expressing bacterial β -galactosidase allowed us to compare infection levels in Vero cells after 48 h, using trypomastigotes that were treated with H₂O₂, with or without pCPT-cAMP. Our results show that cAMP increases the number of amastigotes produced during infection for parasites under no stress or treated with low doses of H₂O₂. To establish if cAMP enhanced infectivity or survival under oxidative stress we used fluorescent vital staining with resazurine dye and the stable tetrazolium salt (WST-1) colorimetric indicator. Taken together, our results unveil an unknown role for cAMP as a protective regulator against oxidative stress in *T. cruzi* and point to identify potential components of these signaling pathways.

26 - TFVPS32 REGULA LA DIVISIÓN CELULAR EN EL PARÁSITO *Tritrichomonas foetus*

Lucrecia S Iriarte, Natalia De Miguel, Verónica M Coceres

IIB-INTECH. E-mail: lucreiriarte@hotmail.com

Tritrichomonas foetus es un protozoo flagelado y agente causal de una enfermedad venérea de impacto económico en la explotación ganadera bovina. Si bien la división celular es un proceso clave para la supervivencia de cualquier tipo celular, aún no existen reportes acerca de la regulación de este proceso en *T. foetus*. La escisión final de la citocinesis de la división celular está mediada por la maquinaria ESCRT (formada por los complejos multiproteicos 0, I, II, III). En este trabajo (basándonos en ensayos de sobreexpresión) reportamos que la delección de las dos últimas hélices del extremo C-terminal de la proteína VPS32 (subunidad del ESCRT III) afecta el crecimiento de los parásitos transfectados; algunos de los cuales presentaron múltiples núcleos. Observamos, además, que los parásitos sobreexpresando TfVPS32 $\Delta\alpha$ 4/5 presentaron un arresto en las fases G2/M del ciclo celular; lo cual estaría indicando un rol de la proteína en la división celular final de este parásito.

27 - EXOSOMAS DE *T. CRUZI* AUMENTAN LA CARGA DNA PARASITARIO Y DAÑO TISULAR EN EXPLANTES DE VELLOSIDADES CORIÓNICAS PLACENTARIAS HUMANAS INFECTADAS EX VIVO

Ileana VV Carrillo Wener⁽¹⁾, Christian Castillo⁽²⁾, Ana Liempi⁽³⁾, Lisvaneth Medina⁽⁴⁾, Alejandra Navarrete⁽⁵⁾, Patricio López⁽⁶⁾, Norbel Galanti⁽⁷⁾, Antonio Osuna⁽⁸⁾, Ulrike Kemmerling⁽⁹⁾

(1)(2)(3)(4)(5)(6)(7)(9) Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile, Chile. (8) Centro de Biotecnología, Universidad de Granada, España

E-mail: icarrillow@gmail.com

La transmisión congénita del parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) es epidemiológicamente relevante a pesar de las bajas tasas de transmisión. Durante la transmisión congénita *T. cruzi* es capaz de atravesar la barrera placentaria presente en las vellosidades coriónicas libres y que está compuesta por trofoblasto, tejido conectivo fetal y endotelio de los capilares fetales. El éxito de la transmisión congénita depende de características del parásito, del sistema inmune de madre y feto así como de la placenta de infección. Se ha sugerido que exosomas derivados del parásito son factores de virulencia. Los exosomas son microvesículas liberadas al medio extracelular por una amplia variedad de tipos celulares. Que presentan un rol importante en la comunicación intercelular ya que transfieren proteínas, mRNA y miRNAs entre células. El objetivo del presente estudio fue determinar si exosomas derivados de *T. cruzi* aumentan la infección del parásito y daño tisular en un modelo de infección ex vivo de explantes de vellosidades coriónicas placentarias humanas (HPCVE). HPCVE fueron pre-tratados con exosomas de *T. cruzi* y cultivados en presencia y ausencia de tripomastigotes (105/ml) de la cepa Ypsilon de *T. cruzi* durante 24 horas. Se determinó la carga de DNA parasitario mediante qPCR; el daño tisular fue analizado mediante análisis histopatológico convencional e histoquímicamente para moléculas glicosiladas (PAS) y colágeno (Picro Rojo Sirio). HPCVE pre-tratados con exosomas muestran un incremento significativo del DNA parasitario, sugiriendo un aumento de infectividad parasitaria. Asimismo se observó un aumento en el daño tisular. Interesantemente, también se observó que

exosomas por sí solos inducen un daño histopatológico e histoquímico relevante en el tejido placentario. Se concluye, que los exosomas *T. cruzi* constituyen un factor de virulencia, favoreciendo su infectividad y diseminación, siendo parcialmente responsables del daño tisular generado en la placenta humana durante la infección congénita. Financiamiento: ERANET-LAC grant ELAC2014/HID-0328 and ENL027/16 (UCh).

28-IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AMP-ACTIVATED PROTEIN KINASE IN *Trypanosoma cruzi*

Tamara Sternlieb, Patricio Genta, Alejandra C. Schoijet, Guillermo D. Alonso

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI)

E-mail: tamara.sternlieb@gmail.com

The AMP-activated protein kinase (AMPK) is a heterotrimeric enzyme involved in maintaining energy homeostasis in response to nutrient stress in many organisms. Sequence and structure of its subunits may change between organisms, but they maintain the same function. The α subunit contains a kinase catalytic domain as well as a regulatory domain that inhibits the enzyme in the absence of AMP. The β subunit acts as a scaffold for the other components and intervenes in the localization and activity regulation of the complex. While the γ subunit is thought to be involved in AMP binding. During the transition from the mammal host to the insect vector, *Trypanosoma cruzi* suffers nutritional stress from the absence of glucose in the insect's midgut. The ability to respond to this stress, allows the parasite to differentiate and survive. Recently, AMPK β and γ subunits have been identified in *Trypanosoma brucei*, and it was shown that they are involved in surface protein expression changes in response to nutritional stress. Nevertheless, the α subunit couldn't be found. Using the sequences from *T. brucei* and bioinformatics tools, we have identified three candidate genes for the AMPK subunits of *T. cruzi*, TcAMPK β and TcAMPK γ appear to be highly conserved, while TcAMPK α is only partially conserved, mostly in its catalytic domain. We performed functional studies of these subunits by complementation of *S. cerevisiae* strains lacking

one of the SNF1 complex subunits (kindly provided by Dr. Schmidt, Pittsburgh, USA), proving their ability to revert the 'glucose dependent' phenotype. Until now, we observed that TcAMPK γ effectively restores the ability of yeast lacking Snf4 to grow on plates containing Raffinose as the only carbon source. Also, we overexpressed the β and γ subunits with a hemagglutinin (HA) Tag in CL Brener epimastigotes and evaluated their expression, localization and possible post-translational modifications. So far, these studies suggest that TcAMPK γ co-localizes with glycosomes and suffers from post-translational modifications that shift its expected molecular weight. In the future, we will continue to evaluate the TcAMPK functional role in the parasite and its biochemical properties.

29 - ESTUDIO DEL ROL DE LAS CISTEÍNAS EN LA OLIGOMERIZACIÓN Y FUNCIONALIDAD DE LA PROTEÍNA TRIPARREDOXINA PEROXIDASA CITOSÓLICA DE *Trypanosoma cruzi*.

María Dolores Piñeyro⁽¹⁾, Adriana Parodi-Talice⁽²⁾, Diego Arias⁽³⁾, Lucía Lopez⁽⁴⁾, Carlos Robello⁽⁵⁾

⁽¹⁾Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo: Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo-Uruguay. ⁽²⁾Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo: 3Sección Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ⁽³⁾Instituto de Agrobiotecnología del Litoral, UNL-CONICET, Santa Fe, Argentina. ⁽⁴⁾Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay. ⁽⁵⁾Unidad de Biología Molecular, Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo: Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo-Uruguay.

E-mail: pineyro@pasteur.edu.uy

Trypanosoma cruzi invade diferentes tipos celulares del hospedero, donde sufre la exposición a especies reactivas del oxígeno. Como defensas antioxidantes presentan varias enzimas, destacándose las triparredoxinas peroxidasa (TXNPx), enzimas de la familia

peroxirredoxinas de 2 cisteínas (Cys). Previamente, resolvimos la estructura tridimensional de TXNPx citosólica de *T. cruzi* (cTXNPx), caracterizamos su actividad enzimática y demostramos que constituye un factor de virulencia de *T. cruzi*. Del análisis de cTXNPx surge que esta proteína presenta diferencias con otros miembros de la familia con los cuales presenta alta identidad de secuencia. Particularmente, cTXNPx posee 7 residuos de Cys, incluyendo las 2 Cys catalíticas (C52 y C173). Analizando la estructura tridimensional de la proteína, encontramos que dos cisteínas, C57 y C111, se hallan expuestas al solvente. Cabe destacar que C57, muy cercana a la C52 peroxidática, se encuentra únicamente en especies de *Trypanosoma* y algunas bacterias, pero ausente en las Prdx1 y Prdx2 humanas, como tampoco lo está la C111. El objetivo del trabajo fue estudiar la importancia de los residuos de cisteína en la actividad y en el estado oligomérico de la enzima en condiciones de oxidación y reducción. Para ello, construimos proteínas mutantes en las Cys: cTXNPxC52S, cTXNPxC57S, cTXNPxC111S y cTXNPxC173S, que fueron expresadas y purificadas. La oligomerización en condiciones de oxidación, sobre-oxidación y reducción fue estudiada por gel filtración y electroforesis en condiciones nativas. Los resultados muestran que las cTXNPx salvaje y mutantes forman oligómeros de alto peso molecular, aunque muestran diferencias en los cambios de oligomerización en respuesta a tratamientos con H₂O₂. En particular, el mutante en C57 forma agregados de alto peso molecular en todas las condiciones estudiadas. Estudiamos la actividad enzimática de los mutantes y observamos que la mutación en C111 no afecta la actividad de la enzima, y la mutación en C57 presenta menor actividad que la proteína salvaje. Estudiamos si la cTXNPx presenta función chaperona en ensayos de agregación térmica de citrato sintasa, en distintas condiciones de oxidación-reducción, mostrando que la misma presenta actividad chaperona. Los resultados de este trabajo permiten seguir profundizando la caracterización de una proteína que es un factor de virulencia para *T. cruzi*. Financiación: CSIC I+D 529-2012; FOCEM (MERCOSUR Structural Convergence Fund), grant COF 03/11

30 - EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS ANTIOXIDANTES EN AISLAMIENTOS DE TRYPANOSOMA CRUZI TCV CON DIFERENTE SUSCEPTIBILIDAD AL BENZNIDAZOL

Luz Piedad Quebrada Palacio⁽¹⁾, Adriana Parodi Talice⁽²⁾, Yolanda Hernandez Vasquez⁽³⁾, Miriam Postan⁽⁴⁾

⁽¹⁾/⁽³⁾/⁽⁴⁾ Instituto Nacional de Parasitología . ⁽²⁾UBM Institut Pasteur de Montevideo Facultad de Ciencias UdelaR. E-mail: lupi90@gmail.com

Introducción Durante el proceso de invasión, los tripomastigotes metacíclicos se localizan temporalmente en la vacuola parasitófora dentro del macrófago, donde encuentran un ambiente oxidativo por la síntesis de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrogenadas. El *T. cruzi* posee un sistema antioxidante constituido principalmente por 4 tipos de proteínas: 1) Peroxirredoxinas que incluyen Triparredoxina Peroxidasa citosólica (TcCPx) y mitocondrial (TcMPx), 2) Glutación Peroxidasa (GPx), 3) Hemoperoxidasas (APx) y 4) Superoxidodismutasas citosólica (SODB) y mitocondrial (SODA). La correlación entre niveles de expresión de estas enzimas con la virulencia y susceptibilidad a BZ sugiere un rol importante de las mismas en el resultado de la infección. El objetivo de este trabajo fue determinar la expresión de proteínas antioxidantes en aislamientos con diferente susceptibilidad a benznidazol in vitro, obtenidos de pacientes con enfermedad de Chagas crónica. Metodología Se utilizaron epimastigotes de 2 aislamientos de *T. cruzi* TcV con diferente susceptibilidad a BZ in vitro (ARSE23C, susceptible y FC-BOL10A, resistente). Los parásitos fueron tratados con buffer de lisis, las proteínas obtenidas fueron separadas por SDS-PAGE (20µg/calle) y transferidas a membranas de nitrocelulosa. Las membranas fueron incubadas con Acs policlonales específicos para TcCPx, TcMPx y Triparredoxina I (TXN-I), SODB y SODA, y *T. cruzi* "old yellow enzyme" (TcOYE), seguido por un Ac IgG anti-conejo/HRP y revelado mediante quimioluminiscencia. La carga proteica fue normalizada con α-tubulina y los niveles de expresión proteica fueron estimados mediante densitometría usando el programa Scion Imaging. Resultados La expresión de SODA y TXN-I fue 3 y 6.7 veces mayor, respectivamente, en el aislamiento BOL-FC10A respecto al aislamiento

AR-SE23C. En contraste, la expresión de TcOYE, asociada anteriormente en otros estudios a la susceptibilidad de *T. cruzi* a BZ, estuvo 2.5 veces incrementada en el aislamiento ARSE-23C respecto del aislamiento BOL-FC10A. Conclusión Los resultados de este trabajo confirman que el patrón de expresión de proteínas antioxidantes de subpoblaciones de *T. cruzi* TcV se asocia al perfil de susceptibilidad al BZ in vitro. Financiado por PICT 2013-2828.

31 - EL SILENCIAMIENTO DE TBRRM1 PRODUCE FENOTIPOS ANORMALES Y MUERTE CELULAR EN EL ESTADIO SANGUÍNEO DE TRYPANOSOMA BRUCEI

Analía G Níttolo, Carolina P Bañuelos, Daniel O Sánchez, Gabriela V Levy

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-UNSAM). E-mail: analianittolo@gmail.com

Dado que la transcripción en tripanosomátidos es policistronica, la regulación de la expresión génica en estos organismos se da principalmente a nivel post-transcripcional mediante proteínas de unión a RNA. Nuestra proteína de estudio, TbRRM1 presenta tres dominios RRM de unión a RNA y forma parte del grupo de proteínas SR-relacionadas. Previamente hemos demostrado que TbRRM1 es esencial para la sobrevivencia de *T. brucei* en el estadio procíclico (PF) ya que su silenciamiento produce bloqueo del ciclo celular, alteraciones morfológicas con aparición del fenotipo nozzle y muerte de los parásitos por apoptosis. En este trabajo evaluamos los efectos de la depleción de la proteína TbRRM1 en el estadio sanguíneo del parásito (BSF) mediante la técnica de RNAi. Los resultados demostraron que al igual que en PF, TbRRM1 resulta esencial ya que su silenciamiento produce una disminución de la curva de crecimiento de los parásitos luego del agregado de tetraciclina. Los estudios de la configuración de núcleos (N) y kinetoplastos (K) en parásitos BSF permitieron determinar que la depleción de TbRRM1 produce un ligero aumento de la población que presenta 1N1K y una acumulación de parásitos con configuraciones aberrantes. Sorprendentemente, también observamos el desprendimiento y alargamiento del flagelo luego de la inducción del RNAi, lo que sugiere alteraciones en la zona de anclaje, crucial

para la determinación del largo y de la forma del parásito. Por otro lado, los niveles de los mRNA de TbNOP86, SUMO1/Ulp2 y la proteína 60S ribosomal L38 se encontraron levemente disminuidos, mientras que en PF los niveles de estos transcritos fueron los más afectados luego del silenciamiento de TbRRM1. Estos resultados indican que la proteína TbRRM1 cumpliría roles diferentes en ambos estadios de *T. brucei*, y contribuyen a entender mejor la complejidad de la biología de este tipo de parásitos.

32 - EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE WEE1 DE TRYPANOSOMA BRUCEI EN LEISHMANIA TARENTOLAE

Diana P Wehrendt⁽¹⁾, Mariana Bonilla⁽²⁾, Marcelo Comini⁽³⁾, M Teresa Téllez-Iñón⁽⁴⁾, Mariana Potenza⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾INGEBI. ⁽²⁾⁽³⁾Instituto Pasteur de Montevideo.

E-mail: dwehrendt@gmail.com

La proteína Wee1 es una quinasa de tirosina involucrada en la regulación de la transición G2/M del ciclo celular eucariota. En nuestro laboratorio se caracterizó la proteína quinasa Wee1 de *Trypanosoma brucei* (TbWee1) necesaria para la progresión del ciclo celular y el crecimiento de los parásitos (Boynak et al, 2013). El objetivo de nuestro trabajo es expresar la proteína TbWee1 recombinante en su forma activa para realizar estudios de función e identificar sus putativos sustratos. Dado que la expresión de TbWee1 en un sistema procariota produce una proteína insoluble e inactiva, se decidió utilizar el sistema de expresión de *Leishmania tarentolae*. Al igual que *T. brucei*, *L. tarentolae* pertenece a la familia de tripanosomátidos y posee la maquinaria de modificación post-traducciona eucariota. Por otra parte *L. tarentolae* no es patogénica para humanos, de fácil manipulación y de bajo costo de cultivo. El sistema de *L. tarentolae* también permite una expresión inducible por tetraciclina, que es especialmente útil cuando la sobreexpresión de la proteína de interés resulta tóxica. Otra ventaja es que el vector tiene acoplada la co-expresión de la proteína fluorescente m-cherry junto con la proteína de interés, que facilita la selección de clones positivos. Una mayor expresión de m-cherry

correlaciona con una mayor expresión de la proteína de interés. La proteína TbWee1 se clonó en el vector de expresión de *L. tarentolae* con una etiqueta de Histidina para facilitar la detección con anticuerpos y la purificación. Los parásitos fueron transfectados exitosamente por electroporación e inducidos con tetraciclina por 24, 48 y 72 h para evaluar la expresión. Esto se realizó midiendo la fluorescencia de m-cherry en un espectrofotómetro. Resultados preliminares mostraron un aumento de fluorescencia en los parásitos inducidos respecto al control no inducido. Además se detectó una disminución de la expresión a las 72 h post-inducción. Por microscopía de fluorescencia se observó que dentro de la población transfectada se encuentran parásitos que expresan distintos niveles de m-cherry. Para enriquecer la población en parásitos de alta expresión se realizaron diluciones seriadas de los mismos. Empleando ensayos de western blot e inmunofluorescencia con el anticuerpo anti Histidina se tratará de corroborar la expresión de TbWee1 en estos parásitos. Experimentos posteriores se realizarán para determinar la actividad enzimática de TbWee1. Financiación: CONICET y ANPCyT.

33 - LA INVASIÓN POR *Trypanosoma cruzi*, EN CARDIOMIOCITOS HL-1, GENERA ESTRÉS OXIDATIVO Y ACTIVACIÓN DEL METABOLISMO DE POLÍMEROS DE ADP-RIBOSA

María L Kevorkian, Salomé C Vilchez Larrea, Silvia H Fernández Villamil

INGEBI - CONICET.: laurakevorkian@gmail.com

La Poli (ADP-ribosa) polimerasa 1 (PARP-1) es una enzima nuclear que puede activarse por rupturas en el ADN, vía ERK o aumentos en la concentración de Ca²⁺. Al activarse, sintetiza polímeros de ADP-ribosa (PAR) sobre diferentes proteínas blanco, los cuales son degradados por la Poli ADP-ribosa glicohidrolasa (PARG). PARP-1 está involucrada en la reparación del ADN frente al daño genotóxico, producido por agentes oxidativos, desafíos inmunológicos (LPS, IL-1) o la infección por patógenos. Ante una sobre-activación por daño excesivo, esta enzima puede conducir a la muerte celular o a la activación y persistencia de un proceso inflamatorio. El

metabolismo de PAR es un modulador de la vía de señalización de NFκB y, así, de la generación de citoquinas pro inflamatorias. Nuestro objetivo es estudiar el papel de PARP en el proceso inflamatorio que se establece como respuesta ante la invasión por *T. cruzi*, en cardiomiocitos HL-1 en cultivo. Se evaluó la generación de estrés oxidativo y la activación del metabolismo de PAR generado frente a la infección. Al estudiar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) nucleares y citoplasmáticas se detectaron sólo ROS nucleares a las 2 y 48 horas post infección. Paralelamente, se evidenció la activación del metabolismo de PAR nuclear, en HL-1, en el transcurso de la infección (1, 2, 4, 48 y 72 hs), observándose un aumento en la producción de PAR por inmunofluorescencia indirecta y Western Blot. Considerando que la perturbación del metabolismo de ADP-ribosa afecta a los niveles de infección y de PAR en células Vero, se evaluó el efecto de los inhibidores de PARP-1 (Olaparib) y PARG (DEA) sobre las células HL-1, infectadas por 72 hs. Con respecto al control, se evidenció un aumento en la producción de PAR nuclear y en los niveles de infección al tratarlas con DEA (1 μM), mientras que no se observaron cambios con Olaparib (50 nM). El nivel de infección se midió utilizando parásitos transgénicos que sobre expresan β galactosidasa. Mediante el uso del anticuerpo anti 8-oxo-dG, no se encontró daño genómico a los tiempos estudiados, por lo que se están evaluando otros métodos y condiciones, o considerando la posible activación de PARP por otras vías. Nuestros resultados son una primera aproximación a dilucidar el papel del metabolismo de PAR en la respuesta celular a la infección por *T. cruzi* en cardiomiocitos.

34 - EFECTO DE LA INFECCION EX VIVO DE T. CRUZI Y T. GONDII EN EXPLANTES DE PLACENTA PLACENTA HUMANA, CANINA Y OVINA

Ana Liempi⁽¹⁾, Christian Castillo⁽²⁾, Daniel Droguett⁽³⁾, Ileana Carrillo⁽⁴⁾, Javier Astudillo⁽⁵⁾, Rhonda Veas⁽⁶⁾, Lisvaneth Medina⁽⁷⁾, Norbel Galanti⁽⁸⁾, Ulrike Kemmerling⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾ *Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ⁽⁶⁾Instituto Biología, Pontificia*

Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

E-mail: anitavet@veterinaria.uchile.cl

La transmisión congénita de parásitos zoonóticos como *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) y *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) causa desmedros importantes tanto en la salud humana como animal, lo que lleva a importantes pérdidas económicas. Adicionalmente esta forma de transmisión es parcialmente responsable de la imposibilidad de erradicación de la enfermedad de Chagas y de la Toxoplasmosis. Ambos parásitos deben atravesar la barrera placentaria para infectar al feto. La placenta de mamífero se clasifica según grado de invasión en el endometrio lo que determina el tipo de barrera placentaria. Así, las placentas humanas, caninas y ovinas se definen como hemocorial (muy invasiva), endotelicorial (moderadamente invasiva) y epiteliocorial (poco invasiva). El objetivo del presente estudio fue evaluar, en modelos de infección ex vivo, si el tipo de barrera placentaria influye en el grado de infección parasitaria y determinar el daño tisular causado por tanto por *T. cruzi* como por *T. gondii*. Explantes de placenta humana (HPE) canina (CPE) y ovina (OPE) fueron incubadas en ausencia y presencia de 10^5 ó 10^6 tripomastigotes *T. cruzi* (cepa Y) ó taquizoítos de *T. gondii* (cepa RH) durante 2 y 24 horas a 37°C. La carga de DNA parasitario fue determinada a través de qPCR y el daño tisular fue evaluado mediante histopatología convencional así como mediante histoquímica para moléculas glicosiladas (PAS) y colágeno (Picro rojo Sirio). DNA parasitario fue detectado a las 2 horas de incubación en los tres tipos de explantes, ambos parásitos causan un daño tisular significativo, el que es más notorio con *T. gondii* que con *T. cruzi*. Se concluye que ambos parásitos son capaces de atravesar a los distintos tipos de barrera placentaria durante la infección ex vivo. Financiamiento: ERANET-LAC grant ELAC2014/HID-0328, FONDECYT 1130113, ENL027/16 (UCH).

35 - ANALISIS DE LA VARIABILIDAD GENETICA DE SECUENCIAS DE ADN SATELITE DE *Trypanosoma cruzi*

Juan C Ramirez⁽¹⁾, Carolina Torres⁽²⁾, María de los A Curto⁽³⁾, Alejandro G Schijman⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular "Dr. Héctor N. Torres" (INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina. ⁽²⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: juankrg@yahoo.es

Las poblaciones naturales de *Trypanosoma cruzi* han sido clasificadas en seis Unidades Discretas de Tipificación (UDTs, TcI-TcVI), asociadas con diferente distribución geográfica y ciclos de transmisión. Los marcadores utilizados para identificar las UDTs son de repetitividad moderada y sólo pueden ser aplicados a muestras clínicas con elevadas cargas parasitarias, con lo cual una elevada proporción de muestras de pacientes crónicos no pueden ser caracterizadas. Por esto, nos propusimos analizar la variabilidad genética de la secuencia de ADN satélite de *T. cruzi*, altamente conservada y repetitiva, con el objetivo de localizar patrones moleculares de tipificación de mayor sensibilidad. Se descargaron 141 secuencias de ADN satélite de *T. cruzi* del GenBank procedentes de cepas de TcI, TcII, TcIII, TcV y TcVI, y se clonaron y obtuvieron 188 secuencias de cepas con menor (TcI, TcII y TcVI) o nula (TcIV) representatividad en las bases de datos. Las secuencias fueron alineadas (ClustalX) y analizadas filogenéticamente (MrBayes), con el modelo evolutivo más apropiado acorde al Criterio de Información de Akaike (jModelTest). Se calculó la distancia genética entre los diferentes UDTs y agrupamientos de ADN satélite (Mega) y se investigó la presencia de patrones moleculares de acuerdo a la UDT y agrupamiento de procedencia de las secuencias satélite (VESPA). El árbol filogenético presentó tres agrupamientos basales. El primero agrupó todas las secuencias de las cepas TcI y TcIII analizadas, y algunas de TcV y TcVI. El segundo estuvo formado por las secuencias de las cepas TcII y la mayor parte de TcV y TcVI. Y el tercero incluyó exclusivamente las secuencias de las cepas TcIV. Se encontró una menor distancia genética entre las cepas de los UDTs I y III, y V y VI, y una mayor distancia entre cepas TcI y TcIII respecto a TcII; mientras las

cepas TcIV fueron equidistantes del resto. Se logró identificar SNPs característicos de cada agrupamiento a partir de los cuales se podrá clasificar las secuencias satélite como tipo TcI/III, TcII, TcIV, o híbridos (TcV/VI). Los resultados de este trabajo permitirán tipificar muestras de pacientes crónicos con bajas cargas parasitarias y mejorar los métodos de diagnóstico molecular de *T. cruzi* basados en ADN satélite. A su vez, las relaciones filogenéticas encontradas aportan evidencias que contribuirán al estudio de la historia evolutiva de las diferentes UDTs.

36 - EVIDENCIAS DE LA EXPRESIÓN DE LA ENZIMA DIHIDROXIACETONA QUINASA (DAK) EN *Trypanosoma cruzi*

Patricia Andrea Garavaglia⁽¹⁾, Laura M. Tasso⁽²⁾, Guillermo Eastman⁽³⁾, José R. Sotelo-Silveira⁽⁴⁾, Gabriela A. García⁽⁵⁾, Joaquín J.B. Cannata⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾INP. ⁽³⁾ Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ⁽⁴⁾ Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ⁽⁶⁾ IIB-UNSAM.

E-mail: pato_garavaglia@hotmail.com

Las dihidroxiacetonas quinetas (DAKs) son enzimas que catalizan la fosforilación de la dihidroxiacetona (DHA). Si bien la DHA puede ser utilizada como fuente de carbono por distintos organismos, al alcanzar ciertos niveles presenta toxicidad. *Trypanosoma brucei* carece del gen que codifica para la DAK y por lo tanto, la DHA es tóxica para este parásito. Por el contrario, en la base de datos de *Trypanosoma cruzi* hay dos secuencias que codifican para probables TcDAKs, TcCLB.507011.200 y TcCLB.503983.20. Estudios de RNASeq y “ribosome profiling” indican que ambos genes se transcriben y traducen en los estadios epimastigote (E) y tripomastigote metacíclico TM, encontrándose una disminución, tanto en la transcripción como en la traducción, al pasar de E a TM. Ambos genes reducen su eficiencia traduccional en un 50% en el cambio de estadio. Se evaluó la actividad de TcDAK en la fracción soluble de epimastigotes de *T. cruzi* con DHA y ATP como sustratos y midiendo la oxidación de NADH en una reacción acoplada con glicerol 3-fosfato dehidrogenasa. La actividad

específica de TcDAK fue de 38.3 nmoles NADH/min/mg. A fin de evaluar el efecto de la DHA en el crecimiento de *T. cruzi* se cultivaron epimastigotes en presencia de DHA durante 72 hs. Con DHA 1 y 2 mM no se observaron cambios en las tasas de crecimiento, mientras que con DHA 4 mM se produjo una disminución del 20 % del crecimiento con respecto al control. Contrariamente, se observó una inhibición del 100 % del crecimiento de promastigotes de *T. brucei* luego de 48 hs de cultivo con DHA 1 mM. Dado que la expresión de ciertas DAKs se incrementa en situaciones de estrés celular, se evaluó la actividad de TcDAK luego de someter a los epimastigotes a situaciones de estrés oxidativo (H₂O₂ 100 µM) o hiperosmótico (CINa 0,1 y 1 M). El tratamiento de los parásitos con H₂O₂ durante 1h indujo un incremento de 2.4 veces de la actividad de TcDAK. Por otro lado, el tratamiento con CINa provocó un descenso de la actividad de TcDAK a los 30 minutos seguido de un aumento significativo a los 60 minutos. La DHA provendría del medio externo o a partir del glicerol metabolizado por la TcAKR. Los resultados obtenidos indican que *T. cruzi* tiene una DAK activa que le permite metabolizar la DHA. Su mayor expresión en el estadio epimastigote y en condiciones de stress podría relacionarse con las condiciones en el intestino del insecto vector en relación a la fuente de carbono disponible, la osmolaridad y la disponibilidad de oxígeno.

37 - CARACTERIZACION MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE *Trypanosoma cruzi* DE PACIENTES EN ENSAYOS CLINICOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Juan C Ramirez⁽¹⁾, Mary C Torrico⁽²⁾, Priscilla A da Costa⁽³⁾, Soraia de O Silva⁽⁴⁾, Alejandro F Benatar⁽⁵⁾, Anabelle de la Barra⁽⁶⁾, Rudy Parrado⁽⁷⁾, Lineth García⁽⁸⁾, Faustino Torrico⁽⁹⁾, Andrea M Macedo⁽¹⁰⁾, Isabela Ribeiro⁽¹¹⁾, Alejandro G Schijman⁽¹²⁾

⁽¹⁾⁽⁵⁾⁽¹²⁾(INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina. ⁽²⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia. ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽¹⁰⁾Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil. ⁽⁹⁾Fundación CEADES, Cochabamba, Bolivia. ⁽¹¹⁾Drug for Neglected

Diseases initiative (DNDi), Ginebra, Suiza.
juankrg@yahoo.es

Las poblaciones naturales de *Trypanosoma cruzi* han sido clasificadas en seis Unidades Discretas de Tipificación (UDTs, TcI-TcVI), asociadas con diferente distribución geográfica y ciclos de transmisión. Se ha observado que esta diversidad genética de *T. cruzi* podría estar implicada en su respuesta diferencial a drogas tripanocidas. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar el polimorfismo genético de aislamientos de *T. cruzi* de pacientes crónicos enrolados en ensayos clínicos de la enfermedad de Chagas. Se obtuvieron 46 hemocultivos de igual número de pacientes con la enfermedad de Chagas crónica residentes en Bolivia: 21 de muestras del ensayo clínico E1224 colectadas 10 meses post-tratamiento (6 del grupo placebo y 15 de pacientes tratados con diferentes dosis de ravuconazol), 7 de muestras colectadas durante el tamizaje del ensayo clínico Fexinidazol recién finalizado, y 18 pertenecientes a pacientes del estudio EpiNet que no recibieron tratamiento. Luego de obtenido, el ADN genómico de cada aislamiento fue analizado mediante: 1) amplificación y secuenciación de ADN satélite; 2) determinación del perfil de PCR-RFLP de la región hipervariable del ADN de minicírculo; 3) identificación de UDTs por PCR Multiplex en Tiempo Real con sondas Taqman; y 4) determinación de haplotipos por análisis de loci microsátélites. Los experimentos de secuenciación de ADN satélite y PCR-RFLP de ADN de kinetoplasto aún se encuentran en estudio pero los resultados de la tipificación por PCR Multiplex indican la presencia de TcV en 45 de los 46 aislamientos, mientras que el hemocultivo restante fue identificado como TcII y corresponde a un paciente del grupo placebo del estudio E1224. Por su parte, el análisis de seis loci microsátélites sugiere la presencia de un único clon de *T. cruzi* en cada uno de los aislamientos y la misma cepa en todos los hemocultivos TcV. Estos hallazgos revelan la elevada prevalencia de esta cepa TcV en la región en donde fueron realizados estos estudios y su persistencia en pacientes refractarios al tratamiento con ravuconazol. Queda pendiente conocer la respuesta de los pacientes tratados con fexinidazol cuando se abran los códigos de este estudio. Si bien no contamos con hemocultivos de antes y después del tratamiento

para un mismo paciente, el hecho que se trate de la misma cepa TcV nos permite hipotetizar que el tratamiento con ravuconazol no indujo selección de poblaciones parasitarias.

38 - IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL PRIMER TRANSPORTADOR DE PANTOTENATO (TcPPT1) EN *Trypanosoma cruzi*

Laura Fraccaroli, M Daniela Ruiz, Darío E Balcazar, Luciana Larocca, Fabiana Stolowicz, Pablo S Torres, Carolina Carrillo

ICT Milstein - CONICET. E-mail: lalyfra@gmail.com

La enfermedad de Chagas es una parasitosis endémica en América Latina causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Las terapias actuales son altamente tóxicas y de limitada eficacia por lo que existe una necesidad de identificar blancos para el desarrollo de nuevas terapias tripanocidas. Las vitaminas son micronutrientes esenciales para todas las células vivas; muchos organismos las sintetizan de novo mientras que otros las obtienen del medio a través de transportadores específicos. Evidencias del transporte de riboflavina (vitamina B2) y sus efectos en la biología de *T. cruzi* fueron reportados previamente por nuestro grupo de trabajo. El pantotenato (vitamina B5) es precursor de la coenzima A, involucrada en numerosas reacciones celulares esenciales. Análisis bioinformáticos sugieren que *T. cruzi* no sintetiza pantotenato de novo. Dada su relevancia en distintos tipos celulares, el objetivo del trabajo fue determinar el rol del pantotenato en *T. cruzi* e identificar sus potenciales transportadores. La tasa de proliferación de epimastigotes de *T. cruzi* de la cepa Y, evaluada por curvas de crecimiento y MTT, fue significativamente disminuida en medios de cultivo en ausencia o con baja concentración de pantotenato. Este efecto antiproliferativo fue revertido con el agregado de pantotenato en forma dependiente de la concentración. En contrapartida, el efecto proliferativo de pantotenato no fue observado en otros tripanosomátidos como *T. brucei*, *L. mexicana* y *C. fasciculata*. A través de análisis in silico, identificamos un potencial transportador de pantotenato (TcPPT1) que presenta

características estructurales descriptas para otras permeasas de *T. cruzi*, A partir de ADN de epimastigotes de la cepa Y, se amplificó el TcPPT1, se clonó en el vector de expresión p-Trex, y se construyó una cepa de *T. cruzi* que sobreexpresa TcPPT1 fusionado a mCherry (proteína fluorescente roja). La expresión de TcPPT1 y mCherry fue confirmada por PCR, RT-PCR y microscopía de fluorescencia. Resultados preliminares mostraron un ligero aumento en la proliferación de epimastigotes transgénicos en medios con bajas concentraciones de pantotenato. Esta cepa sobreexpresante será utilizada para caracterizar, en comparación con la cepa control, el rol de TcPPT1 en la proliferación de los epimastigotes, metaciclización y amastigogénesis así como su localización subcelular. Una caracterización más profunda de este transportador permitirá evaluar su condición como potencial blanco terapéutico.

39 - Identification of new Cruzipain inhibitory scaffolds from the GlaxoSmithKline HAT and CHAGAS chemical boxes

Emir Salas Sarduy, Lionel Urán Landaburu, Juan José Cazzulo, Fernán Aguero, Vanina E Alvarez

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas - Universidad Nacional de General San Martín.

E-mail: valvarez@iib.unsam.edu.ar

American Trypanosomiasis or Chagas disease is a prevalent, neglected and potentially life-threatening illness caused by the kinetoplastid protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. It is estimated that 8-11 million people are chronically infected in Latin America, representing a substantial social and economic burden. Owing to the extensive global migration of asymptomatic, chronically infected individuals from endemic regions, Chagas disease now affects thousands of people in nonendemic regions. The current chemotherapy is limited only to nifurtimox and benznidazole, two drugs that have limited efficacy in the chronic phase and are rather toxic. In this scenario, more efficacious and safer drugs, preferentially acting through a different mechanism of action and directed against novel targets, are particularly welcome. Cruzipain, the main papain-like cysteine peptidase of *T. cruzi*, is an important virulence factor and a

chemotherapeutic target with excellent pre-clinical validation evidence. The enzyme is involved in: i) parasite nutrition and differentiation, ii) invasion of mammalian cells, iii) evasion of the host immune response and iv) its inhibitors have proved to effectively block parasite growth both “in vitro” and “in vivo”. In this regard, the irreversible Cruzipain inhibitor K777 has been efficacious in preclinical models of *T. cruzi* infection, including immunocompetent and immunodeficient mice and dogs, confirming the potential of Cruzipain inhibitors as chemotherapeutic candidates for the treatment of Chagas disease. Here, we present the identification of new Cruzipain inhibitory scaffolds within the GlaxoSmithKline HAT and CHAGAS chemical boxes (two collections grouping 404 non-cytotoxic compounds with high antiparasitic potency, drug-likeness, structural diversity and scientific novelty). To this end, we adapted a continuous enzymatic assay to a 384-multiwell format and carried out a primary screening of both compound collections, followed by construction and analysis of dose-response curves for the most promising hits. Using the identified hits as starting point, structurally-related compounds, not detected in the experimental screening or present only in the non-examined LEISH chemical box, or in other public domain chemical databases were identified by computational methods. The potential binding mode and mechanism of action of these prototypic compounds will be discussed based on this information.

40 - Identification of M32 peptidase inhibitors in new compound sets with anti-kinetoplastid activity

Gabriela T Niemirowicz, Juan José Cazzulo, Fernán Aguero, Vanina E Alvarez

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas - Universidad Nacional de General San Martín.

E-mail: valvarez@iib.unsam.edu.ar

Members of the Trypanosomatidae family comprise a large number of species that are causative agents of several highly disabling and often fatal diseases such as sleeping sickness, Chagas' disease and Leishmaniasis. The current chemotherapy used in the treatment of these infections presents serious side-effects, and in

some cases have low effectiveness, which makes imperative the development of new chemotherapeutic compounds. The M32 family of metallopeptidases (MCPs) contains a group of hydrolases, which although being broadly distributed among prokaryotic organisms, can only be found in a few eukaryotes including some green algae and trypanosomatids. The absence of M32 MCPs in metazoans constitutes an attractive trait due to the high specificity/selectivity potential of this family for drug development. In particular, *Trypanosoma cruzi* and *T. brucei* contain conserved M32 MCPs (at 71% identity) whose structure and biochemistry are well characterized. Nonetheless, no inhibitors or biological functions for these two proteins have been reported to date. On the basis of their biochemical properties and stage-specific expression, they have been implicated in the catabolism of peptides and proteins to single amino acids required for protein synthesis, the regulation of small peptide metabolism, and more recently, the replication cycle of the kinetoplast in the case of *T. brucei* MCP-1. In this work, we present the identification of new M32 inhibitory scaffolds within the GlaxoSmithKline HAT and CHAGAS chemical boxes (two compound collections grouping 404 non-cytotoxic compounds with high antiparasitic potency, drug-likeness, structural diversity and scientific novelty). To this end, we developed and optimized a continuous enzymatic assay to a 384-multiwell format and carried out a primary screening of both compound collections, followed by construction and analysis of dose-response curves for the most promising hits. Using this strategy we identified several inhibitors which have differential potency and selectivity towards both *T. cruzi* and *T. brucei* MCP-1 peptidases. These results provide a testable target and hypothesis on the mechanism of action of these compounds. Moreover these inhibitors represent new useful tools to understand the action mode of M32 MCPs and also enable further studies towards the functional understanding of role of these enzymes in trypanosomatid biology.

41 - VARIABILIDAD GENÉTICA DE STRONGYLOIDES STERCORALIS Y SU RELACIÓN CON LA REACTIVACIÓN PARASITARIA

Lisana Arguello⁽¹⁾, Estela Batalla⁽²⁾, Burgos Juan⁽³⁾, Catalina Alba soto⁽⁴⁾, Stella Maris Gonzalez Cappa⁽⁵⁾, Silvia Repetto⁽⁶⁾, Paula Ruybal⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾ IMPaM-Facultad de Medicina-UBA.

⁽³⁾ Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, IIB-UNSAM. E-mail: lisanarguello@gmail.com

Strongyloides stercoralis es un geohelminto perteneciente al phylum Nematoda, orden Rhabditida y familia Strongyloididae. Afecta a un 10-40% de la población mundial en regiones tropicales y subtropicales. En Argentina, las áreas de mayor prevalencia corresponden al NOA y NEA. Produce infecciones crónicas en el humano y cuadros severos en pacientes inmunocomprometidos secundarios a la migración sistémica de larvas a diferentes tejidos. La cura parasitológica se define como la ausencia de larvas al año post-tratamiento. Sin embargo, nuestro grupo de trabajo ha observado reactivaciones a partir del segundo año. La amplia distribución geográfica del parásito y su impacto en salud pública plantean la necesidad de estudiar su variabilidad genética en la práctica clínica y su estructura poblacional. En este sentido, nos propusimos evaluar la diversidad genética de *S. stercoralis* y su posible asociación con las características clínicas y la evolución de la parasitosis en los pacientes. Se evaluaron 17 pacientes con diagnóstico y seguimiento de estrogiloidosis (recuento de eosinófilos, parasitológicos directos, CAN, y carga parasitaria por qPCR) oriundos de Argentina, Paraguay y Perú. A partir del análisis de las secuencias de una región de 404 pb. del gen mitocondrial *cox1* al momento del diagnóstico se describieron 5 haplotipos. Estos fueron evaluados en el contexto de 66 secuencias de *S. stercoralis* (oriente: Laos y Japón), *S. fuelleborni*, *S. planiceps*, *S. mirzai*, *S. papillosus* y *A. lumbricoides* (outgroup). El análisis filogenético resultó en agrupamientos concordantes con las especies estudiadas. Dentro del cluster de *S. stercoralis*, se definieron 6 subclusters (sc). Uno de ellos correspondió a 2 haplotipos descritos en 8 de los 17 pacientes (sc2), mientras que los 3 haplotipos restantes (9 pacientes) se agruparon con alelos de oriente en el sc1. No se encontró asociación entre sc y género, área endémica, carga parasitaria, recuento de eosinófilos y forma clínica (X^2 , $p>0,05$;). Sin embargo, 7 de 7 pacientes con

seguimiento del sc1 reactivaron y solo 1 de 3 del sc2. El sc1 incluye haplotipos con una mayor distribución geográfica y capacidad de reactivación aún post-tratamiento. Esto podría deberse a que corresponden a genotipos con elevado "fitness". Si bien esta asociación no resultó estadísticamente significativa, el aumento de los casos estudiados permitirá evaluar los haplotipos como marcadores de evolución clínica.

42 - EXPRESIÓN, LOCALIZACIÓN Y PERFIL ANTIGÉNICO DE PROTEÍNAS TOLT DE *Trypanosoma cruzi*

Maite M Lobo, Virginia Balouz, Luciano J Melli, Gaspar E Cánepa, Santiago Carmona, Andrés Ciocchini, Fernán Agüero, Carlos A Buscaglia

IIB-INTECH.

E-mail: maitemlobo@hotmail.com

ToIT fue caracterizado originalmente como un antígeno flagelar de tripomastigotes de *T. cruzi*, codificado por un reducido número de genes altamente homólogos dispuestos en tándem. Posteriormente, se determinó que era blanco de una fuerte respuesta inmune celular y humoral en animales y/o pacientes chagásicos, por lo que se evaluó su potencial como candidato vacunal y reactivo para serodiagnóstico. Una reciente búsqueda en bases de datos reveló una mayor complejidad genómica para los genes ToIT en tripanosomátidos. Sólo en *T. cruzi* pudimos identificar 19 secuencias con similitud significativa a ToIT (>40% identidad) las cuales se dividieron, en base a criterios estructurales y de secuencia, en 3 grupos principales llamados ToIT-A, ToIT-B y ToIT-C, siendo ToIT-A el grupo que contiene al antígeno ToIT original. En líneas generales, todos los miembros de la familia poseen un péptido señal clivable en el extremo N-terminal seguido por una región madura más conservada con algunos motivos y residuos Cisteína conservados y una señal de anclaje por GPI en su extremo C-terminal, aunque hay algunas excepciones a esta disposición estructural. Topológicamente, el extremo más divergente entre los grupos ToIT-A y ToIT-B se ubicaría hacia la parte distal, coincidente con lo observado en otras familias multigénicas del parásito involucradas en fenómenos de interacción y/o evasión inmune. Para caracterizar en más detalle esta familia

multigénica realizamos estudios a nivel de expresión (RT-PCR y técnicas inmunoquímicas) y localización subcelular (microscopía y distintos ensayos bioquímicos) de miembros representativos de los distintos grupos de ToIT en los 3 estadios principales de este parásito. Por otro lado, realizamos un mapeo epitópico preliminar en pacientes infectados crónicos usando microarreglos de péptidos y variantes delecionales de las distintas proteínas expresadas de manera recombinante. Nuestros resultados indican que ToIT-A y ToIT-B presentan una región común e inmunodominante cercana al extremo C-terminal y, que aparentemente son co-expresadas en la superficie del flagelo del tripomastigote (como también en los estadios de amastigotes en transición) y secretadas al medio extracelular. ToIT-C, grupo más divergente y menos representado, presenta una menor antigenicidad y un distinto patrón de expresión. En definitiva, nuestros resultados constituyen una caracterización preliminar a nivel genómico, estructural y de expresión de las proteínas ToIT de *T. cruzi*,

43 - ANALISIS GENÉTICO DE LA RESISTENCIA AL INSECTICIDA DELTAMETRINA DE TRIATOMA INFESTANS DE ARGENTINA Y BOLIVIA

Gonzalo Roca Acevedo, Georgina Fronza, Maria Inés Picollo, Ariel Ceferino Toloza

CIPEIN (UNIDEF-CITEDEF-CONICET) E-mail: ltcdata@gmail.com

Triatoma infestans es uno de los principales vectores de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica. En la Argentina, los insecticidas piretroides se han utilizado en forma continua en el control químico de este vector desde los años 80s. En 2002, se confirmó una zona con alta resistencia a piretroides asociada a fracaso de control en el norte de Argentina y sur de Bolivia. Es sabido que altos valores de resistencia podrían estar relacionados con la presencia de mutaciones puntuales (SNP's) del tipo kdr. La determinación de presencia o ausencia de las mutaciones se realizó a nivel poblacional e individual mediante PCR's anidadas para detectar la presencia de las mutaciones. En este trabajo se realizó un análisis toxicológico y se analizó la

presencia de las mutaciones tipo *kdr* denominadas L1014F y L925I del canal de sodio voltaje dependiente en ninfas I provenientes de Campo Largo (Salta, Argentina) y Entre Ríos (Tarija, Bolivia). Los resultados toxicológicos mostraron niveles muy altos de resistencia en ambas poblaciones estudiadas, siendo de 1108 y 173x para la población de Argentina y de Bolivia. El análisis molecular de las poblaciones estudiadas determinó la presencia de la mutación L1014F y la ausencia de la L925I. El estudio a nivel individual de la mutación L1014F reveló que en la población argentina existe una alta frecuencia de individuos en heterocigosis. Se discute la asociación de la presencia de estas mutaciones con el grado de resistencia y el éxito en las estrategias de control con insecticidas piretroides.

44 - LA SOBREENPRESIÓN DEL FACTOR NUCLEAR TCHMGB EN *T. CRUZI* POSEE UN EFECTO DELETÉREO EN LA REPLICACIÓN E INVASIÓN CELULAR

*Luis E Tavernelli, Esteban C Serra, Pamela Cribb
IBR-CONICET.*

E-mail: luistavernelli@gmail.com

Trypanosoma cruzi, el agente causal de la Enfermedad de Chagas, presenta una organización genómica particular donde sus genes están organizados en clusters policistrónicos separados por regiones conocidas como SSR (strand switch regions) desde donde inicia la transcripción. *T. cruzi* carece de los mecanismos clásicos de regulación transcripcional, y solo se han identificado algunos factores de transcripción basales y proteínas relacionadas con el remodelado de la cromatina. Las proteínas "High Mobility Group" (HMG) son proteínas nucleares no histonas muy abundantes. Estas interactúan con la cromatina en una forma dinámica, jugando un rol importante en la ejecución y control de funciones nucleares, influyendo en distintos fenotipos celulares. TcHMGB pertenece a la familia de proteínas HMGB, capaces de distorsionar, curvar o modificar la estructura del ADN en la cromatina. Estas proteínas se unen al ADN mediante su dominio HMG-box de forma independiente a la secuencia nucleotídica del ADN. La proteína

TcHMGB se expresa en todos los estadios del ciclo de vida del parásito, siendo más abundante en los estadios replicativos epimastigote y amastigote que en la forma infectan (tripomastigote). Para contribuir al conocimiento funcional de esta proteína, se seleccionaron parásitos sobreexpresantes de la proteína TcHMGB para caracterizar y determinar su relevancia en procesos vitales del parásito. La sobreexpresión de la proteína TcHMGB en epimastigotes produce un efecto deletéreo en la tasa de crecimiento. Estos parásitos mostraron tener una relación núcleo/kinetoplasto anormal, donde la mayoría de ellos poseen múltiples núcleos y un kinetoplasto. Esto sugiere un desacople en el proceso de división del contenido genómico, como así también la incapacidad de llevar a cabo una correcta división celular. Ensayos de citometría de flujo mostraron un arresto en la fase G2/M del ciclo celular. Por otro lado se evaluó la capacidad de estos sobreexpresantes de infectar células de mamíferos (VERO) observándose una disminución en la cantidad de células infectadas como así también el número de amastigotes por célula. Nuestros resultados sugieren que TcHMGB es importante para el correcto funcionamiento de los procesos nucleares y podría cumplir roles esenciales en el parásito.

45 - CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE UNA NUEVA ESPECIE DEL GÉNERO TRYPANOSOMA AISLADA DE MAMÍFEROS SILVESTRES DE SANTIAGO DEL ESTERO

Nicolas Tomasini, Paula G Ragone, Cecilia Perez Brandan, Patricio Diosque

Instituto de Patología Experimental - Facultad de Cs de la Salud - Universidad Nacional de Salta - CONICET. E-mail: nicotomasini@yahoo.com.ar

El género *Trypanosoma* abarca a un gran número de especies parásitas de vertebrados y transmitidas usualmente por diferentes vectores hematófagos (insectos y sanguijuelas). Dentro de este género existen clados específicos para distintas clases de vertebrados (peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos) sugiriendo adaptación al tipo de hospedador. El presente trabajo describe tanto biológica como molecularmente

una nueva especie del género *Trypanosoma*, perteneciente al clado de los tripanosomas de serpientes y lagartos pero aislada de dos especies diferentes de mamíferos. Durante una campaña para la identificación de *T. cruzi* en ambientes silvestres de la provincia de Santiago del Estero, hemocultivos provenientes de muestras de sangre de dos roedores *Calomys* sp. y de un gato montés (*Leopardus geoffroyi*) resultaron positivos para la presencia de tripanosomátidos. Sin embargo, mediante PCR específica se descartó que los parásitos fueran *T. cruzi* o alguna especie del género *Leishmania*. El análisis filogenético de la secuencia de fragmentos de dos genes diferentes (18s y gGAPDH) mostró que los tres aislados pertenecen al género *Trypanosoma* y se agrupan cercanos a *T. serpentis*, *T. cascavellis* y *T. varani*, tres especies pertenecientes al clado de los tripanosomas de reptiles. Por otra parte, los aislados fueron caracterizados morfológicamente mediante microscopía óptica, distinguiéndose formas epimastigotes y formas similares a esferomastigotes. Posteriormente los aislados fueron inoculados por vía intraperitoneal e intradérmica en ratones machos de 30 días de edad de las cepas BALB/c y NUDE, en una dosis de 1×10^6 y 2×10^6 parásitos/ratón. Actualmente, las técnicas de parasitemia y hemocultivo se están aplicando para corroborar la infectividad en los animales inoculados. La distancia genética, el tipo de hospedador y las diferencias en cuanto a la morfología con las cepas de la especie más cercana filogenéticamente (*T. serpentis*) indican que se trata de una especie no descrita previamente. Se propone designar a esta especie como *T. basombrii* en honor al Dr. Miguel Angel Basombrió, fundador del Instituto de Patología Experimental de Salta y pionero en el estudio de las enfermedades causadas por tripanosomátidos en el norte argentino. El hallazgo de este tripanosoma en mamíferos demuestra la versatilidad del género para adaptarse a diferentes hospedadores vertebrados en tiempos evolutivos relativamente cortos.

46 - TRÁFICO INTRACELULAR DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA A TRAVÉS DE LA VACUOLA CONTRÁCTIL EN *Trypanosoma cruzi*

Giannina Carlevaro, Juan Burgos, Oscar Campetella, Juan Mucci

Instituto de Investigaciones biotecnológicas IIB-UNSAM. E-mail: carlevarogiannina@gmail.com

En tripanosomátidos, el sistema de secreción de proteínas se caracteriza por estar altamente polarizado y direccionado hacia el bolsillo flagelar, involucrando el retículo endoplasmático, Golgi, cuerpos multivesiculares y endosomas. En *T. cruzi*, hemos demostrado que existe otra organela involucrada en el transporte de proteínas a membrana, la vacuola contráctil (VC), una organela ausente en mamíferos e involucrada en la osmo-regulación en protozoarios. Hasta el momento, demostramos que la VC está involucrada en el transporte de la TS, TSSA y mucinas alfa galactosiladas, todas ancladas a membrana por GPI, indicando que la VC estaría involucrada en el transporte de proteínas con dicha ancla. Además demostramos que existen al menos dos poblaciones de mucinas: las alfa-galactosiladas y las sialidadas, que se organizan separadamente en la membrana de tripomastigotes, con anterioridad consideradas una sola. En este estudio, al analizar el tráfico de las mucinas sialidadas observamos que también co-localizan en la VC con la TS, lo cual indicaría que las diferencias en la glicosilación no afecta el transporte intracelular de proteínas con el mismo ancla (GPI). Seguidamente, probamos abordar el tráfico por la VC mediante tratamientos con inhibidores vacuolares, Bafilomicina A y NBD-Cl. Sin embargo, en las concentraciones estudiadas ($0,1-2 \mu\text{M}$), éste no se vio afectado. Finalmente, obtuvimos una población de parásitos sobreexpresantes de la GTPasa Rab11-GFP (marcador de VC). Para analizar si la VC forma parte del tráfico general de proteínas de membrana o si está íntimamente relacionada al tipo de anclaje, estudiamos el tráfico de proteínas con distinta unión a membrana según predicciones bioinformáticas. Éstas son: la Calpaína-like (miristoilada y palmitoilada), KMP-11 (interacción directa con lípidos) y TolT (GPI), tres proteínas flagelares presentes en el estadio tripomastigote. Utilizando los parásitos sobreexpresantes y mediante microscopía

confocal, se observó co-localización de las proteínas ToIT y KMP-11 con Rab11-GFP durante su transporte hacia la membrana plasmática. Sumado a esto, se detectó asociación de la KMP-11 con calreticulina (marcador de retículo endoplásmico). Por otro lado, la Calpaína-like fue detectada en vesículas direccionadas hacia la zona flagelar sin observarse una co-localización evidente con la VC. Por ende, estos resultados dan indicios de que la VC participa en el tráfico de proteínas que entran en la vía secretoria clásica (RE-Golgi).

47 - ANÁLISIS DE MUTACIONES DE TIPO Kdr EN TRIATOMA INFESTANS (REDUVIDAE: TRIATOMINAE) RESISTENTES A DELTAMETRINA DEL GRAN CHACO ARGENTINO

Georgina Fronza⁽¹⁾, *Gonzalo Roca Acevedo*⁽²⁾, *Gastón A Mougabure Cueto*⁽³⁾, *María I Picollo*⁽⁴⁾, *Ariel C Toloza*⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ *Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas, CONICET-UNIDEF.* ⁽³⁾ *Centro de Referencia de Vectores (CeReVe) DETV-MSAL.*

E-mail: georginafronza@gmail.com

En Argentina, la Enfermedad de Chagas afecta a más de un millón y medio de personas. Su prevención se basa principalmente en el control del insecto vector mediante el uso de insecticidas piretroides como la deltametrina. La presencia de fenotipos resistentes a estos insecticidas representa un obstáculo en el control de la vinchuca *Triatoma infestans* (Klug, 1834), principal vector en nuestro país. Desde los 90s, se han detectado en diversas regiones del Gran Chaco poblaciones con diferentes niveles de resistencia, los cuales estaban asociados a fallas de control de campo. Estos altos niveles podrían deberse a alteraciones en el canal de sodio dependiente de voltaje. Recientemente fueron descritas dos mutaciones puntuales en el gen de dicho canal (L1014F y L925I) en poblaciones resistentes provenientes de las provincias de Salta y Chaco. Nuestros estudios previos detectaron un foco resistente complejo en el Departamento de General Güemes, Chaco. Se estableció una alta heterogeneidad toxicológica posiblemente asociada a diferentes mecanismos

involucrados en la promoción de fenotipos con grados de resistencia muy variables, algunos de ellos con los niveles más altos hallados hasta el momento. El objetivo de este trabajo fue analizar la presencia y frecuencia de las dos mutaciones tipo Kdr en poblaciones del foco resistente. Las poblaciones utilizadas fueron: Bella Vista (susceptible de referencia), El Maulle (baja resistencia, GR 4,72 (2,11-10,63) y La Rinconada (alta resistencia, GR >1.000). Se realizaron ensayos específicos para *T. infestans* basados en sucesivas PCRs. Se determinó la presencia de los alelos resistentes al correr el producto de PCR y detectar diferencias en el tamaño de las bandas amplificadas en el caso de la L1014F o digeridas en el caso de la L925I. Los primeros resultados permitieron ver que las mutaciones puntuales no están presentes en las poblaciones susceptible y de baja resistencia. En la de alta resistencia, se detectó la presencia de la mutación L925I manifestándose en homocigosis en alta frecuencia, pero no de la L1014F. Se discute la importancia de incorporar protocolos de biología molecular para el análisis del problema complejo de la resistencia a insecticidas, como herramienta que contribuya a mejorar el control de la parasitosis con mayor incidencia en América del Sur.

48 - AURORA QUINASAS DE *Trypanosoma cruzi*: ESTUDIO DE SUMOILACIÓN UTILIZANDO EL SISTEMA ENZIMÁTICO DE T. BRUCEI EXPRESADO EN E. COLI

Nadia M Barrera⁽¹⁾, *María J Figueras Lopez*⁽²⁾, *Matías Fassolari*⁽³⁾, *Paula Iribarren*⁽⁴⁾, *Vanina E Alvarez*⁽⁵⁾, *Guillermo D Alonso*⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁶⁾ *INGEBI.* ⁽⁴⁾⁽⁵⁾ *IIB-UNSAM.*
galonso@dna.uba.ar

Las proteínas de la familia Aurora quinasa son un grupo de quinastas de serina/treonina con implicancia en el proceso de división celular, destacándose en la maduración y división del centrosoma, condensación de la cromatina, ensamblado del huso mitótico, corrección de errores en la unión de los microtúbulos al cinetocoro e iniciación de la citocinesis. Previamente en nuestro laboratorio se detectaron y caracterizaron parcialmente tres Aurora

quinasas presentes en *T. cruzi*: TcAUK1, TcAUK2 y TcAUK3. Al ser proteínas reguladoras del ciclo celular, sus niveles de expresión están sujetos a modificaciones post-transcripcionales y post-traduccionales que garantizan una fina regulación. Mediante análisis por western blot, de extractos proteicos de *T. cruzi* en sus tres estadios (epimastigote, amastigote y tripomastigote), hemos observado que los pesos moleculares obtenidos difieren de los teóricos, presentando en algunos casos doble banda. Para evaluar si estas proteínas podrían ser blanco de SUMOilación, inicialmente evaluamos la presencia de sitios consenso para esta modificación mediante análisis con el software (SUMOPlot™ Analysis Program), encontrando un posible motivo conservado en TcAUK1, tres en TcAUK2 y dos en TcAUK3, todos ellos con alto "score". Es interesante destacar que en todos los casos se observó que uno de los sitios de SUMOilación se ubicaba en el sitio activo de la enzima. Esta modificación, exclusiva de organismos eucariotas, provoca cambios en la localización subcelular, en la estabilidad y actividad de las proteínas, modificación en las interacciones entre proteínas y se encuentran relacionadas a la regulación de la transcripción y a la degradación de proteínas. Para avanzar con este estudio, en colaboración con la Dra. Vanina Alvarez (Universidad de San Martín) transformamos las distintas Aurora quinasas, en un sistema de SUMOilación in vivo generado en bacterias que expresan la maquinaria enzimática de *T. brucei*. Luego de inducir la expresión de las distintas proteínas, se prepararon extractos proteicos que fueron luego analizados por western blot.

49 - CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE UNA GLUTARREDOXINA MONOTIÓLICA DE *Trypanosoma cruzi*

Natalia Sasoni⁽¹⁾, Vanina E Márquez⁽²⁾, Alberto A Iglesias⁽³⁾, Sergio A Guerrero⁽⁴⁾, Diego G Arias⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾Laboratorio de Enzimología Molecular – IAL – CONICET- UNL – Santa Fe.

⁽²⁾Laboratorio de Fermentaciones – FBCB – UNL – Santa Fe.

E-mail: darias@fcb.unl.edu.ar

Las glutarredoxinas (Grx) son pequeñas proteínas vinculadas al metabolismo redox y a la homeostasis del hierro intracelular. *Trypanosoma cruzi* es el parásito protozoario que causa la enfermedad de Chagas. En este trabajo, se presentan las propiedades funcionales y estructurales de una Grx monotiólica de *T. cruzi*. La proteína recombinante fue capaz de catalizar la reducción in vitro de GSSG usando T(SH)₂ como donante de electrones. Por otra parte, se observó que la proteína recombinante fue capaz de coordinar clúster de hierro-azufre (ISC) mediante un ensayo de reconstitución in vitro. Los espectros de absorción resultantes revelaron dos picos característicos de complejos de Grx-ISC. Además, el perfil obtenido mediante cromatografía de filtración por geles indicó que el complejo de Grx-ISC está formado por una especie dimérica de Grx. Por otra parte, se empleó un ensayo de complementación funcional basado en el rescate de fenotipos de levaduras mutantes para Grxs. Los experimentos de complementación demostraron que el fenotipo de las mutantes de delección en *grx5* y *grx4* pudieron ser rescatados por complementación con la Grx heteróloga, suprimiendo parcialmente la sensibilidad de las células a oxidantes exógenos. Estos resultados sugieren que la Grx en estudio puede tener funciones importantes en el metabolismo redox y en la biogénesis de ISC en *T. cruzi*. Financiado por: ANCYT (PICT2013-0253, PICT2014-2103 y PICT2014-3256).

50 - CLONACIÓN Y SOBREEXPRESIÓN DE LAS PROHIBITINAS 1 Y 2 DE *Trypanosoma cruzi*

Ana Karina Ibarrola Vannucci⁽¹⁾, Susana Vilchez Tornero⁽²⁾, María de los Ángeles Curto⁽³⁾, Alejandro Gabriel Schijman⁽⁴⁾, Antonio Osuna Carrillo de Albornoz⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. España. ⁽³⁾⁽⁴⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGEBI.

E-mail: ana_karinai@hotmail.com

Las prohibitinas (PHB) 1 y 2 son proteínas conservadas, pertenecientes a la superfamilia SPFH (Stomatins, Prohibitins, Flotillins, HflK/C),

con un dominio común PHB. En eucariotas superiores ésta familia está involucrada en eventos como: la proliferación celular, envejecimiento, apoptosis y el mantenimiento de la integridad mitocondrial. La familia de las prohibitinas, también puede actuar como chaperonas mitocondriales o jugar un papel en la biogénesis mitocondrial. Dentro del grupo de los tripanosomátidos, se comprobó su presencia en diferentes especies de *Leishmania* y en *Trypanosoma brucei*. En *Leishmania donovani*, se determinó que las prohibitinas juegan un papel importante en la interacción hésped-parásito, favoreciendo la infección del mismo. En cambio, en *Trypanosoma brucei*, se las encontró en las mitocondrias formando un complejo de proteínas, que participaría en el correcto plegamiento de las enzimas de la cadena respiratoria, actuando como chaperona / holdasa. Hasta el momento no hay estudios realizados en *Trypanosoma cruzi*. La comparación de las secuencias aminoacídicas de estas proteínas con la de eucariotas superiores, revelan un nivel de identidad entre 53 y 39% para la PHB1; y entre el 50 y el 34% para la PHB2. En los tripanosomátidos, estas proteínas se encuentran más conservadas, compartiendo valores de identidad hasta el 93%, sugiriendo un papel importante. Partiendo de extractos de proteínas totales de epimastigotas y amastigotas/tripomastigotas sanguíneos, a través de un Western blot se comprobó la presencia de las proteínas de estudio en estos estadios. Además, se realizó un rastreo de la presencia de los genes PHB1 y PHB2 por PCR en 7 cepas diferentes de *T. cruzi*, pertenecientes a distintos DTUs. Solo en la cepa CL-Brener estos genes se encuentran asignados a cromosomas, la primera se encuentra en el cromosoma 25 y la segunda en el cromosoma 38. En el presente trabajo, también se describe la clonación de expresión de los genes de estudio, partiendo de cDNA de epimastigotes de la cepa PAN4 (DTU I) en el vector pTREX-TAPtag-GW, la transfección y sobreexpresión de los mismos en las cepas DM28 (DTU I) y CL Brener (DTU VI).

51 - EXPRESION DE LA FAMILIA TCTASV DE T. CRUZI : MINERIA DE DATOS DE EXPRESION Y CORRELACION CON DATOS EXPERIMENTALES

Mariana Rizzi, Matias Rodriguez, Lucas Cairo, Daniel Sanchez, Valeria Tekiel

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas.

E-mail: maj_r9@hotmail.com

La familia de proteínas de superficie TcTASV de *T. cruzi*, está compuesta por aproximadamente 40 miembros. No posee ortólogos en otros organismos y está conservada en diferentes linajes de *T. cruzi*. De acuerdo a la longitud, secuencia y motivos de la región central de las proteínas se definen 4 subfamilias: TcTASV-A, B, C y W. Realizando minería de datos de expresión (RNAseq y proteómica) y secuencias disponibles en bases de datos, intentamos identificar secuencias ó motivos que podrían estar determinando las diferencias en el patrón de expresión entre estadios de *T. cruzi*. Analizando los datos de RNAseq de la cepa Y (TcII;) (Li et al, 2016) observamos que en este linaje los mRNAs de TcTASVs de todas las subfamilias también están sobrerrepresentados en el estadio tripomastigote (T) respecto del amastigote (A). Los transcritos pueden ser agrupados de acuerdo a su nivel de sobre-expresión: HiHi sobre-expresados más de 20 veces (genes TcTASV-A, B y C), y HiLow sobre-expresados hasta 4 veces (en éste grupo sólo encontramos 2 genes TcTASV-A). En relación con datos de proteómica, se identificaron por primera vez péptidos de genes TcTASVs sobre-expresados en tripomastigotes sanguíneos, que no habían sido identificados en tripomastigotes de cultivo ni otros estadios (Brunoro et al, 2014). Los patrones y niveles de expresión pueden estar determinados al menos en parte por las secuencias de los 3'UTRs. El análisis de estas regiones mostró dos grupos principales: uno (G1) dentro del cual segregaron los genes HiHi y otro (G2) en el cual segregaron los genes HiLow y un gen identificado por proteómica. Cada grupo presentó alta identidad de secuencias en los 3'UTR (90%) pero entre grupos (G1 vs G2) la similitud fue de ~20%. Llamativamente todos los genes del G2 pertenecen a la subfamilia TcTASV-A. Esto sugiere fuertemente que las diferencias en el 3'UTR podrían explicar el patrón de expresión

diferencial de TcTASV. Previamente, demostramos que en la cepa CL Brener la subfamilia TcTASV-C se expresa en tripomastigotes y TcTASV-B lo hace tanto en tripomastigotes como en amastigotes. Observamos que ambas subfamilias tienen localización preferencial en superficie, aunque sólo TcTASV-C es secretada en forma soluble y en vesículas extracelulares. Por otro lado, la subfamilia TcTASV-A se expresa en T y A intracelulares. Actualmente estamos analizando las regiones amino y carboxi terminales para identificar motivos proteicos que pudieran modular la localización de las TcTASVs.

52 - Secreción de la TcCyP19 del *Trypanosoma cruzi* y su posible rol en la infección.

Alina E Perrone⁽¹⁾, Bustos PL⁽²⁾, Mildubeger N⁽³⁾, Búa J⁽⁴⁾

⁽¹⁾INP "Dr. M. Fátala Chaben" A.N.L.I.S.- C.G. Malbrán. ⁽²⁾INP "Dr. M. Fátala Chaben" A.N.L.I.S.- C.G. Malbrán/CONICET. ⁽³⁾⁽⁴⁾INP "Dr. M. Fátala Chaben" A.N.L.I.S.- C.G. Malbrán/CAECIHS-UAI.

E-mail: alinaperrone@yahoo.com.ar

Las ciclofilinas (CyPs) son una familia de proteínas altamente conservadas entre especies que tienen actividad peptidil proilil cis-trans isomerasa participando en el plegamiento de proteínas, y son inhibibles por Ciclosporina A (CsA). La secreción de las ciclofilinas citosólicas al espacio extracelular ha sido descrita tanto en células humanas así como también en los parásitos protozoarios *Toxoplasma gondii* y *Trypanosoma brucei*. En *T. cruzi*, se ha descrito que varias proteínas parasitarias secretadas están involucradas en el proceso de invasión de *T. cruzi* en la célula de mamífero. Existe una familia de ciclofilinas en el parásito, entre las cuales la TcCyP19, de 19 kDa y de localización citosólica, es homóloga a la CyPA de mamíferos. Esta isoforma se expresa abundantemente tanto en epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes y ha demostrado tener actividad de peptidyl proilil cis trans isomerasa. Al realizar estudios de secreción por Western Blot, encontramos que la TcCyP19 es secretada al espacio extracelular en los mismos estadios del parásito. Para estudiar el

rol de esta proteína en el entorno extracelular del parásito, analizamos la interacción de la TcCyP19 con células de mamífero y se midió esta asociación por citometría de flujo, demostrándose que dicha proteína se une e ingresa en células VERO, siendo este proceso parcialmente inhibido por pre-incubación de la proteína con CsA. También se observó que la TcCyP19 inhibe la penetración de los tripomastigotes de cultivo en células VERO, siendo esta inhibición, parcialmente inhibida por la pre-incubación de esta proteína con anticuerpos específicos y/o su inhibidor. Esta proteína podría proteger a la célula hospedadora con el fin de perpetuar la sobrevivencia del tejido infectado que le da sustento al parásito y le permite desarrollar su ciclo de vida. Muchas proteínas citosólicas secretadas por *T. cruzi* han sido descritas como factores de virulencia y con propiedades inmuno-estimuladoras. Consideramos que la secreción de la TcCyP19 podría ser inducida o reprimida por diferentes estímulos, resultando su estudio de interés para dilucidar aspectos de la relación parásito-huésped. Este trabajo fue financiado por Focanlis 2011, PICTO – ANLIS 00136/2011 y Focanlis 2014.

53 - POLY(ADP-RIBOSA) POLIMERASA DE TRYPANOSOMA BRUCEI ES SELECTIVAMENTE ACTIVADA POR ADN

Mariana Schlesinger⁽¹⁾, Teemu Haikarainen⁽²⁾, Ezeogo Obaji⁽³⁾, Lari Lethio⁽⁴⁾, Silvia Fernandez Villamil⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽⁵⁾INGEBI-CONICET. Buenos Aires.
⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾University of Oulu, Finland
E-mail: villamil@dna.uba.ar

Trypanosoma brucei posee una única poli(ADP-ribosa)polimerasa (TbPARP) que utiliza NAD⁺ como sustrato para formar polímeros de ADP-ribosa. Previamente demostramos que esta enzima citoplasmática es capaz de migrar al núcleo luego del tratamiento con peróxido de hidrógeno y se activa en respuesta al ADN dañado, por lo que podría actuar como un sensor de daño genómico. hPARP-1 (humana) posee tres dominios dedos de Zn que le permiten su unión al ADN, mientras que hPARP-2 y 3 lo hacen a través de un dominio N-terminal rico en aminoácidos básicos. El extremo N-terminal de

TbPARP es rico en Lys por lo que postulamos que podría mediar la interacción con el ADN. Analizamos la unión al ADN de la proteína completa (FL) o fragmentos (N, NW, WRA, RA), siendo N dominio amino terminal, W y R posibles dominios regulatorios y A dominio ADP-ribosa transferasa, utilizando el ensayo de EMSA y varios oligonucleótidos doble cadena de ADN. El dominio N no fue estrictamente necesario pero sí incrementó la unión al ADN, aunque cuando ambos dominios N y W fueron omitidos la unión se inhabilitó casi en forma completa. N también fue requerido para la actividad enzimática, medida como desaparición de NAD⁺ por fluorimetría. Evaluamos si la auto ADP-ribosilación y la generación de polímeros cargados negativamente sobre TbPARP disocian la enzima del complejo como un mecanismo de regulación. La incubación de FL con NAD⁺ disoció el complejo previamente formado con ADN, siendo este efecto revertido en presencia de EB-47, un inhibidor de la actividad de PARP. Para identificar el oligonucleótido activador se utilizaron varias estructuras de oligos de ADN. Los oligos no fosforilados fueron pobres activadores, mientras que solo algunas estructuras fosforiladas resultaron activadores fuertes. El ADN doble cadena o en horquilla con extremos 3' o 5' overhangs fosforilados activaron fuertemente a la enzima, mientras que la fosforilación no cambió las propiedades de activación del ADN simple cadena o doble cadena con extremos romos (ss-ADN, ds-ADN, horquilla u otra estructura). Basados en el requerimiento específico de ciertos templados para su activación, postulamos que TbPARP no funcionaría como una proteína global de sensado de daño genómico como hPARP-1, sino que estaría involucrada en ciertos tipos de reparación como hPARP-2 y 3.

54 - EFECTOS DE LA SOBREEXPRESIÓN DE LA TRIPANOTIÓN SINTETASA PARA *Trypanosoma cruzi*

Andrea C Mesias⁽¹⁾, María D Piñeyro⁽²⁾, Carlos Robello⁽³⁾, María P Zago⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾Instituto de Patología Experimental (UnSA-CONICET). ⁽²⁾⁽³⁾Institut Pasteur de Montevideo.

E-mail: andreacmesias@gmail.com

Las enzimas del sistema redox constituyen una red metabólica que le permite a *T. cruzi* lidiar con diferentes agentes oxidantes, remover sus propios productos tóxicos, así como también le brinda la posibilidad de tolerar una de las primeras barreras de defensa impuesta por el huésped, el estallido respiratorio del macrófago. El tripanotión, es un tiol de bajo peso molecular, que intercambia los equivalentes de reducción con la maquinaria antioxidante del parásito. La Tripanotión Sintetasa (TryS) es la enzima que cataliza su síntesis a base de espermidina y glutatión, en una reacción esencial y específica de los tripanosomátidos. Por estos motivos, varios grupos analizan inhibidores en vistas al desarrollo de nuevas drogas para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas. Al ser la biosíntesis de tripanotión una parte primordial del proceso de la homeóstasis redox, la TryS guarda una relación directa con la capacidad de invasión del macrófago por parte del parásito. Esto se refleja en el hecho de que los niveles de expresión de esta enzima son mayores en líneas virulentas respecto de atenuadas, y mayores en los estadios infectivos en relación a los replicativos. Para poder estudiar las funciones de esta enzima para *T. cruzi*, generamos poblaciones sobreexpresantes pertenecientes a la DTU I. Los parásitos TryS⁺ presentaron una mayor resistencia a diferentes agentes oxidantes, de acuerdo a los coeficientes de inhibición (IC₅₀) observados. Asimismo, al evaluar su tolerancia frente a los antibióticos de primera línea Benznidazol y Nifurtimox, que actúan esencialmente mediante la generación de estrés oxidativo, observamos un valor de IC₅₀ mayor respecto de los parásitos con un nivel basal de expresión de TryS. La infección in vitro de macrófagos RAW 264.7 con estas líneas produjo cambios significativos en los niveles de estrés oxidativo global, producción intracelular de ROS y RNS, especies que el macrófago ofrece como acción parasiticida. Los resultados preliminares obtenidos permiten relacionar directamente al nivel de expresión de la TryS con una modulación de la interacción huésped-parásito que se establece durante la respuesta inmune innata y la resistencia a antibióticos. Por lo que sería posible que su inhibición parcial, con fines terapéuticos, tuviera un efecto sinérgico con la administración de Benznidazol.

55 - RESPUESTA METABÓLICA FRENTE A HORMONAS ANTAGÓNICAS DEL HOSPEDADOR EN EL ESTADIO LARVARIO DE ECHINOCOCCUS GRANULOSUS

Perla S Negro⁽¹⁾, Julia A Loos⁽²⁾, Valeria A Dávila⁽³⁾, Andrea C Cumino⁽⁴⁾

⁽¹⁾Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, 2170 Casilda (S. Fe)
⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata (Buenos Aires), CONICET.acumino@gmail.com

En el estadio larvario, *Echinococcus granulosus* debe mantener un balance metabólico entre los requerimientos nutricionales y la disponibilidad de moléculas combustibles (principalmente glucógeno) para lograr un estado de homeostasis bioquímica que promueva el desarrollo y la sobrevivencia del cestode. Existen evidencias que el aporte hormonal del hospedador participaría de los mecanismos homeostáticos permitiéndole al parásito regular la disponibilidad de metabolitos claves combustibles. En este trabajo frente a diferentes situaciones nutricionales, el contenido de glucógeno y lípidos fue determinado, pudiéndose registrar la estabilidad en el contenido de glucosa libre en contraposición a la de compuestos de reserva. También fueron identificados y caracterizados in silico cuatro transportadores de glucosa (GLUTs) pertenecientes a la familia SLC2, responsables de la actividad funcional en la incorporación del análogo fluorescente derivado de 2-D-glucosa (2-NBDG, 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-il)amino]-2-desoxi-D-glucosa, 2-NBDG, 480/535 nm). Basados en la capacidad bioquímica de este análogo metabólico, fueron estimadas las reacciones de biosíntesis de glucógeno en el parásito bajo los efectos de insulina y glucagón. Además, la actividad mitocondrial de protozoos in vivo fue determinada con la sonda potenciométrica de doble emisión, JC-1, registrándose un aumento del potencial de membrana en presencia de glucagón (aproximadamente -250 mV). La distribución relativa en el cambio de fluorescencia roja/verde (590/538 nm) fue registrada en imágenes confocal de doble canal y los efectos del glucagón sobre el aumento de la actividad mitocondrial fueron relacionados con el aumento de la actividad autofágica de células que concentran

calcio en su matriz citoplasmática, como los corpúsculos calcáreos, dando cuenta una vez más de la función metabólica activa de estas células especializadas en cestodes. La acción integrada de insulina y glucagón, para los cuales el parásito expresa receptores en sus membranas celulares y vías de transducción de señales intracelulares, permitirían el ajustado control en el nivel de glucosa libre en el parásito. Por otro lado, es ampliamente conocido que la autofagia regula la función mitocondrial, pero en condiciones donde la autofagia y mineralización coexisten, la activación de la autofagia protegería significativamente contra la disfunción mitocondrial como ha sido descrito en otros sistemas celulares.

56 - ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE CEPAS RESISTENTES DE FASCIOLA HEPATICA

Pablo Smircich⁽¹⁾, Santiago Radío⁽²⁾, Victoria Solana⁽³⁾, Valeria Gayo⁽⁴⁾, Pedro Ortiz⁽⁵⁾, Hugo Solana⁽⁶⁾, José Tort⁽⁷⁾

⁽¹⁾Departamento de Genética, Facultad de Medicina. LIM, Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
⁽²⁾Departamento de Genética. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
⁽³⁾⁽⁶⁾Laboratorio de Biología Celular y Molecular. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, 7000 Tandil, Argentina.
⁽⁴⁾Instituto 'Miguel C. Rubino', Dirección de Laboratorios Veterinarios (DILAVE), Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Montevideo, Uruguay.
⁽⁵⁾Laboratorio de Inmunología. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, 06001 Cajamarca, Perú.
⁽⁷⁾Departamento de Genética, Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

E-mail: psmircich@fcien.edu.uy

La fasciolosis es una zoonosis que afecta a 300 millones de bovinos y a 250 millones de ovinos, con un costo estimado de casi 3 millones de dólares anuales. Esta parasitosis está además emergiendo como un problema sanitario en humanos, afectando de 2 a 17 millones de personas mundialmente. Aun cuando hay tratamientos disponibles, las drogas son costosas

y pueden resultar en daño hepático y generalmente no impiden la reinfección. Más aun, en varios países se están detectando cepas resistentes en ganado y más recientemente se han reportado casos de resistencia en humanos. El presente estudio busca caracterizar el transcriptoma de aislados resistentes de *Fasciola hepatica* en comparación con el correspondiente de cepas sensibles. Para esto analizamos los perfiles de expresión génica tanto a nivel global como focalizando en posibles genes candidatos de resistencia. Los resultados muestran variaciones interesantes en los niveles de expresión de genes que codifican para proteínas que intervienen en procesos relevantes. Esperamos que estos datos permitan revelar posibles mecanismos moleculares de generación de resistencia.

57 - TcTSSA un proteína de tipo mucina de *T. cruzi* involucrada en la invasión de la célula huésped

Maria Camara, Virginia Balouz, Gaspar Canepa, Andres Llantos, Juan Mucci, Fernan Agüero, Carlos Buscaglia

IIB-INTECH-UNSAM.

E-mail: milagritos.camara@gmail.com

La especie *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la Enfermedad de Chagas se encuentra representada por un gran número de cepas con distinta prevalencia en distintas zonas endémicas y hospedadores que presentan una gran heterogeneidad en cuanto a su comportamiento biológico. La variabilidad entre cepas de *T. cruzi* también se ve reflejada en la cubierta del parásito que se encuentra compuesta por una gruesa capa de glicoconjugados, entre cuyos componentes mayoritarios se encuentran las mucinas; una familia heterogénea de proteínas altamente O-glicosiladas que cumplen funciones diversas entre las cuales se encuentran el reconocimiento e invasión de distintos tipos celulares y la activación de respuestas pro-inflamatorias en el hospedador. En el presente trabajo hemos comenzado con la caracterización funcional de un proteína de tipo mucina TcTSSA, cuya expresión se encuentra restringida al estadio del tripomastigote. Mediante búsquedas bioinformáticas hemos encontrado distintas

isoformas de la misma en los distintos linajes de *T. cruzi*. Los resultados de la sobreexpresión de las distintas isoformas de TcTSSA en tripomastigotes de *T. cruzi* indican que únicamente la isoforma presente en el linaje VI de *T. cruzi* estaría siendo secretada en vesículas y estaría involucrada en la adhesión e invasión del parásito a células no macrofágicas. Por otra parte la sobreexpresión de TcTSSA estaría asociada a altos niveles de amastigogénesis indicando que estaría involucrada en la diferenciación al estadio intracelular. Esperamos que los resultados obtenidos permitan comprender con mayor exactitud la biología de *T. cruzi* como ha sido también los procesos de invasión y adhesión a la célula huésped con la finalidad de poder encontrar nuevos blancos terapéuticos contra la enfermedad de Chagas.

58 - ENDONUCLEASAS APURÍNICAS/APIRIMIDÍNICAS (AP) DE LA VÍA BER Y SU PARTICIPACIÓN SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y VIABILIDAD DE *Trypanosoma cruzi*

Lucía Valenzuela, Iván Ponce, Sofía Sepúlveda, Norbel Galanti y Gonzalo Cabrera.

Facultad de Medicina - Universidad de Chile

E-mail: lucia.valenzuela@ug.uchile.cl

Trypanosoma cruzi es un parásito que se encuentra expuesto en todas sus formas celulares (epimastigote, tripomastigote y amastigote) al daño generado por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/RNS) generado por el ataque del sistema inmune innato del hospedero mamífero, así como del ambiente adverso presente en el tracto intestinal del hospedero triatomino. Las lesiones genotóxicas que se generan por exposición a estos agentes, pueden interferir con procesos celulares fundamentales como la expresión génica y la replicación del DNA. En eucariontes recientes, el daño oxidativo al DNA es reparado principalmente mediante la vía de reparación por escisión de bases (BER), donde las endonucleasas AP cumplen un rol fundamental. En el genoma de *T. cruzi*, se identificaron secuencias nucleotídicas que codifican para endonucleasas AP, a las cuales se les denominó TcAP1 (ortólogo de APE1 humano) y TcFEN1 (flap endonucleasa). Estas

secuencias fueron sobreexpresadas en epimastigotes utilizando el vector de expresión pTREX-gfp (plasmidio control), conjuntamente con un dominante negativo descrito para la endonucleasa APE1 de humanos al cual se denominó hAPE1DN. Una vez obtenidos los epimastigotes recombinantes, utilizando una cámara de Neubauer, se cuantificaron diariamente el número de parásitos presentes en cada cultivo con el fin de evaluar proliferación celular. Tanto epimastigotes que sobreexpresan TcAP1 como TcFEN1 proliferan más en comparación con parásitos controles, mientras que epimastigotes expresando el dominante negativo, proliferan menos, indicando que estas proteínas están relacionadas con el proceso proliferativo del parásito. Posteriormente, utilizando epimastigotes que sobreexpresan TcFEN1 y tripomastigotes expresando TcAP1 y hAPE1DN, se evaluó viabilidad parasitaria de forma aguda y sostenida, (sistema glucosa-glucosa oxidasa), utilizando H₂O₂. Se observó que aquellos epimastigotes sobreexpresando TcFEN1 presentan mayor resistencia frente al estrés agudo y sostenido con respecto a los controles, al igual que tripomastigotes que sobreexpresan TcAP1, mientras que tripomastigotes metacíclicos expresando hAPE1DN presentan una marcada disminución de su viabilidad. Estos resultados nos sugieren fuertemente que la presencia de las AP endonucleasas favorece la proliferación de epimastigotes y genera un proceso más eficaz de reparación del DNA favoreciendo la sobrevivencia parasitaria.

59 -BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF AN ACYL-COA DEHYDROGENASE FROM *Trypanosoma cruzi*

SOUZA, RODOLPHO; MANCHOLA, NC; RAPADO, LN; SILBER, AM.

e-mail: asilber@usp.br

T. cruzi, the etiological agent of Chagas' disease, is a flagellate parasite that alternates between invertebrate and vertebrate hosts (humans among them) during its life cycle. This fact determines that this parasite is submitted to different environments, in which it is adapted to different carbon and energy sources such as carbohydrates, amino acids and lipids. There is a

body of evidences showing that beyond their obvious participation in protein synthesis, amino acids participate in others biological processes such as bioenergetics, resistance to different stresses, modulation of differentiation, cell cycle, and infection of the host-cells. The branched-chain amino acids (BCAA – leucine, isoleucine and valine) degradation pathway is complex and it is constituted by more than a dozen of enzymatic steps. The first's ones consist of a deamination performed by a transaminase, which results in branched-chain α -keto acids. Then, an oxidative decarboxylation occurs, that results in acyl-CoA thioesters. These compounds undergo dehydrogenation by enzymes belonging to the acyl-CoA dehydrogenases family. This enzymatic step is usually able to transfer electrons to FAD⁺ and further to the ubiquinones pool feeding OxPHOS. We found two *T. cruzi* putative sequences for an acyl-CoA dehydrogenase (ACAD), a candidate to participate in both β -oxidation and BCAA degradation, with 70% similarity to the *Homo sapiens* orthologous medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD). The sequence from *T. cruzi* was amplified by PCR, cloned and successfully expressed in *Escherichia coli* BL21 codon plus strain. Kinetic data were obtained from activity measurements in cell-free extracts of epimastigotes ($K_m = 0.291 \mu M$ and $V_{max} = 0.036 \text{ nmols. min}^{-1} \cdot \mu g^{-1}$ for Isovaleryl-CoA and $K_m = 3.305 \mu M$, $V_{max} = 0.85 \text{ nmols. min}^{-1} \cdot \mu g^{-1}$ for Isobutiryl-CoA. The kinetic parameters of recombinant protein to Isobutiryl-CoA are $K_m = 14.05 \pm 1.125 \mu M$ and $V_{max} = 24069 \pm 506.9 \text{ nmols. min}^{-1} \cdot \mu g^{-1}$. Actually we are investigating the activity of rTcACAD with other chain lengths acyl-CoA substrates and the possible participation of this protein and its substrates in the bioenergetics of epimastigotes.

Keywords: *T. cruzi*, branched-chain amino acids, β -oxidation, acyl-CoA, thioesters.

DIAGNOSTICO y TRATAMIENTO

60 - ENSAYO DE INMUNOAGLUTINACIÓN VISUAL COMO MÉTODO DE SCREENING PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIASIS VISCERAL EN CANINOS

Valeria S Garcia⁽¹⁾, Veronica DG Gonzalez⁽²⁾, Luis M Gugliotta⁽³⁾, Diego Arias⁽⁴⁾, Matias Cabeza⁽⁵⁾, Sergio A Guerrero⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾INTEC.

⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾IAL.

valgarcia2011@hotmail.com

En la actualidad, existe una brecha muy grande entre el progreso en el conocimiento de determinadas enfermedades y el esfuerzo por incrementar nuevos métodos de diagnóstico. La leishmaniasis, una patología tan antigua que ya se encuentra en las crónicas de los conquistadores en el siglo XVI, es una enfermedad que diagnosticada precozmente permite un tratamiento adecuado que mejora el pronóstico de la enfermedad. El principal reservorio del agente etiológico es el perro y otros cánidos. En la actualidad, la enfermedad en perros se diagnostica mediante pruebas serológicas y punción de médula ósea (con tinción con colorante de Giemsa). Los ensayos de inmunoaglutinación son ensayos rápidos; de sencilla realización e interpretación; no requieren aparatos sofisticados ni personal especializado para su realización; permiten realizar el diagnóstico visual – “in situ” de grandes cantidades de muestras al mismo tiempo; sólo necesitan una pequeña cantidad de muestra; y son descartables. Su aplicación al diagnóstico de leishmaniasis tiene especial relevancia en el screening de portadores, permitiendo una rápida gestión e intervención sanitaria para reducir los efectos provocados por la enfermedad, así como también su diseminación hacia zonas no afectadas o en recuperación. En este trabajo se estudió la utilidad de un ensayo de inmunoaglutinación visual, para el screening serológico de leishmaniasis visceral en canes. Se utilizaron muestras de suero como fuente de anticuerpos y un complejo látex-proteína obtenido a partir de partículas de látex y un antígeno quimérico recombinante construido en base a secuencias de proteínas altamente conservadas en distintas especies de *Leishmania* spp. Se trabajó con un panel de 170 sueros clasificados anteriormente como positivos y negativos en base a 2 técnicas de referencia (inmuncromatografía y tinción de Giemsa sobre extendidos de médula ósea). Se observó una discriminación significativa entre los sueros positivos y negativos después de 2 minutos de poner en contacto los reactivos. El ensayo, arrojó valores de sensibilidad y

especificidad del 78% y 100% respectivamente, lo que representa resultados prometedores para su aplicación como método de screening para el diagnóstico de leishmaniasis visceral en caninos.

Subsidios: este trabajo recibió apoyo financiero del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva del GPSF), Agencia Nacional de Promoción de la Ciencia y la Tecnología, y la Universidad Nacional del Litoral.

61 - Reposicionamiento de fármacos asistido por computadora orientado a la búsqueda de inhibidores de la N-miristoil transferasa

Lucas Nicolás Alberca⁽¹⁾, Juan Francisco Morales⁽²⁾, Andrés Alonso⁽³⁾, María Corví⁽⁴⁾, Alan Talevi⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾Química Medicinal / Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Bioactivos (LIDeB).
⁽³⁾⁽⁴⁾Laboratorio de Bioquímica y Biología Celular de Parásitos, Instituto Tecnológico de Chascomús (IIB-INTECH).

E-mail: lucas_abk@hotmail.com

Las enfermedades desatendidas son un grupo de enfermedades infecciosas que afectan principalmente a personas en situación de pobreza y con condiciones sanitarias inadecuadas. Dos de las principales enfermedades desatendidas son la enfermedad de Chagas, endémica de países latinoamericanos, y la enfermedad del sueño, endémica de países africanos. A pesar del progreso en el conocimiento de la biología de los parásitos causantes de estas afecciones, *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma brucei*, las terapias actualmente disponibles resultan inadecuadas por su alta toxicidad, su baja tasa de curación y/o su inadecuada vía de administración. Por ello, existe la necesidad de encontrar nuevos fármacos que superen estas limitaciones. Hemos elegido el reposicionamiento de fármacos asistido por computadora, una metodología eficiente (en términos de tiempo y recursos invertidos) para el búsqueda de medicamentos innovadores. Esta estrategia consiste en buscar nuevas indicaciones terapéuticas para fármacos ya aprobados para su uso clínico, siendo particularmente relevante para la búsqueda de soluciones terapéuticas novedosas para enfermedades olvidadas. En este

trabajo, hemos desarrollado y validado modelos capaces de reconocer inhibidores de la enzima N-miristoil transferasa (NMT) de *Trypanosoma brucei*. Esta enzima, responsable de la adición de miristato a la glicina N-terminal de ciertas proteínas, ha sido validada genética y bioquímicamente como blanco molecular tanto para *T. brucei* como para *T. cruzi*. A partir de una base de datos de compuestos evaluados sobre la NMT de *T. brucei*, hemos generado 50 modelos capaces de discriminar entre compuestos “inhibidores” y “no inhibidores” de esta enzima. Luego de su validación, los 5 mejores modelos fueron combinados y aplicados al cribado (screening) in silico de la base de datos Drug Bank 3.0, que compila fármacos aprobados por la FDA. Se determinó el dominio de aplicabilidad de los modelos desarrollados y se estimó la probabilidad de que los candidatos seleccionados resulten verdaderos positivos en los ensayos in vitro, utilizando para esto último gráficos 3D en los que el Positive Predictive Value se representa en función de la relación sensibilidad/especificidad de los modelos y el rendimiento de activos de la base de datos cribada. Los modelos identificaron 34 compuestos prometedores; 5 de los mismos se adquirieron para su evaluación en modelos bioquímicos y celulares.

62 - *Acanthamoeba* spp. EN AGUA PARA CONSUMO GANADERO EN LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA

María del C Rojas⁽¹⁾, María del C. Rojas⁽²⁾, Marcelo Rodríguez Fermepín⁽³⁾, Sixto R Costamagna⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾ *Universidad Nacional del Sur. Cátedra de Parasitología Clínica.* ⁽²⁾ *Florencia Gracias Martin.*
E-mail: rcosta@uns.edu.ar

Acanthamoeba spp., son protozoos de distribución cosmopolita. Pueden desarrollarse en condiciones de vida libre y algunas comportarse como parásitos del hombre y otros animales. Actualmente son 18 los genotipos conocidos basados en el análisis del gen del 18S rRNA. El objetivo de este trabajo, fue el aislamiento y caracterización de los genotipos de *Acanthamoeba* en agua para consumo ganadero en La Pampa, Argentina. Las muestras de agua se obtuvieron de 65 aguadas en establecimientos

ganaderos de tres regiones de La Pampa (Estepa, Espinal, Monte Occidental). Las muestras reposaron en laboratorio 24 horas y de cada una se obtuvieron los inóculos para cultivo. Se sembraron 100 microlitros del sedimento en placas con agar no nutritivo cubierto con una suspensión de *Escherichia coli*. Las placas se incubaron a 37 °C y monitoreadas diariamente durante 15 días. Los cultivos se concentraron por centrifugación y purificados siguiendo el procedimiento UNSET. Los fragmentos del gen del ADN_r18S de *Acanthamoeba* spp., fueron amplificados mediante primers JDP1/JDP2. Como control se utilizó una cepa ATCC de *Acanthamoeba polyphaga*. Los productos obtenidos de la PCR fueron purificados y concentrados utilizando un kit comercial y secuenciados en la Unidad Genómica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Castelar, Buenos Aires). Se buscaron las secuencias similares en el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Las alineaciones y los árboles filogenéticos se construyeron con el programa MEGA7 utilizando la condición de vecino más cercano (Neighbor joining) con un bootstrap de 1000 muestreos al azar. El 83% de los casos estudiados (54/65) presentó crecimiento de *Acanthamoeba* en placas. En el 24% de las muestras con crecimiento (13/54), se confirmó presencia de *Acanthamoeba* spp., por PCR. La secuenciación se realizó sobre siete cepas, identificándose tres genotipos: T4 (homología > 85%), T5 (homología 100%) y T15 o *Acanthamoeba jacobsi* (homología 99%). *Acanthamoeba* ha ganado una creciente importancia en veterinaria, por su capacidad para capturar microorganismos por fagocitosis, actuar como vectores y/o reservorios para los patógenos microbianos, y para producir infecciones graves en humanos y en los animales. Este trabajo permitió confirmar la presencia de *Acanthamoeba* en aguadas en la provincia de La Pampa, las que pertenecían a los genotipos T4, T5 y T15. Es el primer estudio referido a presencia de AVL en aguadas de la Provincia de La Pampa, Argentina.

63 - Regiones abreviadas de P35 y P22 del *Toxoplasma gondii* para diagnosticar toxoplasmosis aguda durante el embarazo.

Juan G Costa⁽¹⁾, Leandro E Peretti⁽²⁾, Valeria S García⁽³⁾, Luz Peverengo⁽⁴⁾, Verónica DG

González⁽⁵⁾, Luis M Gugliotta⁽⁶⁾, María L Dalla Fontana⁽⁷⁾, Claudia M Lagier⁽⁸⁾, Iván S Marcipar⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾FBCB - UNL. ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾INTEC (UNL/CONICET).
⁽⁷⁾Laboratorio Central - Provincia Santa Fe.
⁽⁸⁾IQUIR (UNR/CONICET). ⁽⁹⁾FBCB - UNL y CONICET.

E-mail: lpereetti@santafe-conicet.gov.ar

Las proteínas P35 y P22 del *Toxoplasma gondii* son reconocidas por los anticuerpos específicos durante la fase temprana de la infección, por lo que resultan ideales para el control de esta enfermedad en embarazadas. Ambas proteínas han sido estudiadas en trabajos previos para discriminar entre toxoplasmosis aguda y crónica. Sin embargo, los resultados son difícilmente comparables debido a las distintas formas en que dichas proteínas fueron obtenidas, implicando que los determinantes antigénicos expresados en cada caso no sean los mismos. Además, existen diferencias en la tipificación de los paneles de sueros de referencia y sólo en algunos casos estos antígenos se evaluaron en pruebas de avidéz. En este trabajo, en primer lugar se predijeron bioinformáticamente las regiones de P35 y P22 con la mayor densidad de epitopes. Para el clonado se empleó el sistema de expresión pET32/BL21DE3, logrando obtener las proteínas rP35a y rP22a de manera soluble. Se evaluó su rendimiento diagnóstico utilizando muestras de suero de embarazadas tipificadas de la siguiente manera: grupo no infectado (NI, IgG negativo), grupo crónico típico (CT, IgG positivo, IgM negativo), grupo presumiblemente agudo (PA, IgG positivo, IgM positivo, avidéz de IgG baja) y grupo crónico reciente (CR, IgG positivo, IgM positivo, avidéz de IgG alta). Los principales resultados obtenidos mediante ELISA indirecto señalan que con rP35a se obtuvieron mejores resultados que con rP22a para diferenciar los sueros PA de los CR, con áreas bajo la curva ROC (AUC) de 0,911 y 0,818, respectivamente. Sin embargo, su rendimiento para diferenciar los sueros PA respecto a todos los crónicos (típicos y recientes) fue similar, con AUC: 0,915 y 0,907, respectivamente. Para mejorar la diferenciación de los sueros PA de los CR, los antígenos obtenidos se evaluaron mediante ELISA de avidéz de IgG. Con ambas proteínas se obtuvieron buenos resultados, con valores de AUC de 0,974 y 0,921, respectivamente. Además, se observó que ambas proteínas se

complementan y utilizadas en tándem propician mejores resultados que individualmente. Como conclusión se debe destacar que tanto rP35a como rP22a presentan características que sugieren que podrían reemplazar al lisado del parásito para la detección de toxoplasmosis y para descartar una infección reciente en embarazadas. Nuestra propuesta debe ser validada por un estudio longitudinal y podría conducir a un control fiable de toxoplasmosis durante el embarazo.

64 - A comparison of Ritchie and FLOTAC pellet techniques for the diagnosis of helminths in schoolchildren of Clorinda (Formosa province, Argentina)

Paola Cociancic⁽¹⁾, María L Zonta⁽²⁾, Davide Ianniello⁽³⁾, Graciela T Navone⁽⁴⁾, Laura Rinaldi⁽⁵⁾, Giuseppe Cringoli⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM, UNLP), La Plata, Argentina.
⁽³⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾Department of Veterinary Medicine and Animal Productions, University of Naples Federico II, CREMOPAR, Naples, Italy.
E-mail: paolacociancic@cepave.edu.ar

Background. Diagnosis of endoparasites in children remains a challenge for the epidemiological study of these infections. The aim of this study was to evaluate the efficiency of two coproparasitological techniques (Ritchie and FLOTAC pellet) for the diagnosis of helminths in children of Clorinda (Formosa province, Argentina). Methods. A cross-sectional study was performed in 91 schoolchildren (54.4% males and 45.6% females) aged from 1 to 16 years. Serial stool samples preserved in 10% formalin were processed using Ritchie and FLOTAC pellet techniques. Also, serial anal swab samples were sedimented by centrifugation for the diagnosis of *Enterobius vermicularis*. A positive sample was defined if positive with any parasitological method; prevalence and sensitivity were calculated using contingency tables. Chi square test at a significance level of $p < 0.05$ was used for the differences between techniques.

Results. Out of 91 schoolchildren examined, 42.9% (39/91) were positive for any helminth infection by any method; the most prevalent was *E. vermicularis* (16.5%), followed by *Hymenolepis nana* (14.3%), *Trichuris trichiura* (8.8%), *Ascaris lumbricoides* (7.7%), hookworms (3.3%) and *Strongyloides stercoralis* (1.1%). FLOTAC pellet detected significantly more helminths infections than Ritchie (29.7% vs. 16.5%) ($p < 0.01$) and also, this technique showed a sensitivity of 100% for *H. nana* diagnosis ($p < 0.01$). *Trichuris trichiura* and hookworms were observed only by the FLOTAC pellet technique (8.8% and 3.3%, respectively). The prevalence of *E. vermicularis* was higher with anal swab technique (15.4%) than Ritchie and FLOTAC pellet (1.1% and 2.2%, respectively).

Conclusion. In the present study it is demonstrated that FLOTAC pellet was more sensitive for detection of helminths than Ritchie technique. The low prevalence of *E. vermicularis* found with the coproparasitological techniques and its life cycle suggests using a specific technique as anal swabs. The combination of diagnostic methods supports the study of parasitic diseases and management of parasite infections at individual and community levels.

65 - EFECTO DEL TRATAMIENTO CON BAJAS DOSIS DE BENZNIDAZOL EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CRÓNICA CON *Trypanosoma cruzi* NICARAGUA Y SYLVIO X10/4

Marcela S Rial⁽¹⁾, Yesica M Nana⁽²⁾, Mónica I Esteva⁽³⁾, María L Scalise⁽⁴⁾, Micaela Lopez Alarcón⁽⁵⁾, Adelina R Riarte⁽⁶⁾, Laura E Fichera⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾INP Dr. M. Fatala Chaben ANLIS/Malbrán. ⁽⁷⁾INP Dr. M. Fatala Chaben ANLIS/Malbrán/CONICET. ⁽²⁾Fundación Mundo Sano. E-mail: marcelarial2@hotmail.com

Estudiamos la respuesta a dos esquemas de tratamientos con bajas dosis de benznidazol (BZ) combinado con alopurinol (ALO), sobre la serología y la miocarditis en modelos murinos crónicos. Estos fueron generados por *T. cruzi* Nicaragua en C57BJ/6 y por Tc Sylvio-X10/4 en C3H/HeN. A los 6 meses post tratamiento, observamos que los ratones C57/J6 tratados con 30 dosis orales continuas de 50 y 75 mg/kg/d de BZ (TTc), combinado con 60mg/kg/d de ALO, lograba disminuir la inflamación asociada a la

infección en un 87% y en un 70% la fibrosis. Con el objeto de disminuir la cantidad total de BZ administrada, realizamos un esquema de tratamiento intermitente (TI) de BZ (75 y 100mg/kg) aplicándolo cada 7 días, por un total de 13 dosis, seguido de ALO. Los resultados muestran una disminución de un 85% en la inflamación y un 79,3% en la fibrosis con BZ 100. Los títulos de anticuerpos específicos para *T. cruzi* disminuyeron desde 0.3 en el control no tratado (NT) a 0.1 con BZ 50+ALO y 0.02 (100% negativos) con BZ 75 del TTc. Con el TI los títulos fueron 0.08 y 0.06 (100% negativos) con BZ 100 y BZ 100+ALO respectivamente. En los infectados por Sylvio-X10/4 el TTc de bajas dosis de BZ produjo una disminución de la inflamación en un 70% y 50% en la fibrosis. Los títulos de anticuerpos específicos contra *T. cruzi* disminuyeron desde 0.27 en NT, a 0,10 y 0,08 con 50 y 75 mg/kg/d del TTc respectivamente. El TI con 75 y 100 mg/kg/d generó títulos de 0,21 y 0,15 respectivamente. La línea de corte de los sueros negativos fue 0.04 y la de disminución respecto de los controles fue de 0.18. Todos los tratamientos muestran una disminución significativa en las alteraciones histopatológicas y en los títulos de anticuerpos de los sueros de los ratones, respecto de los controles NT. En C57BJ/6 los niveles más bajos de IgG se obtuvieron con los TTc de BZ 75 (dosis total BZ=2250mg) y el TI de BZ 100 (dosis total =1300mg) + ALO, con 100% de serologías negativas. En C3H/HeN no hay diferencias significativas en la disminución de la serología entre los TTc con BZ 50 (dosis total = 1500) y el de TI BZ 100. Estos resultados unidos a los hallados en otros parámetros, indican que el TI podría considerarse para un esquema con menor acumulación de droga e igualmente efectivo sobre la patología cardíaca.

66 - TRATAMIENTO CON NANOPARTÍCULAS DE BENZNIDAZOL EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL MURINA POR *Trypanosoma cruzi* NICARAGUA

Marcela S Rial⁽¹⁾, María L Scalise⁽²⁾, Eva C Arrúa⁽³⁾, Mónica I Esteva⁽⁴⁾, Claudio J Salomón⁽⁵⁾, Laura E Fichera⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾INP Dr. M. Fatala Chaben ANLIS/Malbrán. ⁽³⁾IQUIR-CONICET, Rosario, Argentina; ⁽⁵⁾IQUIR-

CONICET, Rosario, Argentina/Área Técnica Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina/ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. ⁽⁶⁾INP Dr. M. Fatała Chaben ANLIS/Malbrán/Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. E-mail: marcelarial2@hotmail.com

En trabajos previos, mostramos que nanopartículas de benznidazol (BNZ-nps), son viables en células de mamíferos in vitro, no producen hemólisis en la sangre humana y disminuyen la infección por *T. cruzi* Nicaragua (TcN) en células VERO y en cultivos primarios de cardiomiocitos. Las BNZ-nps fueron preparadas usando poloxamero 188 como estabilizador, sus tamaños de partícula y de distribución son 63.3 nm y 3,35 respectivamente, con un potencial zeta de -18.30 (Scalise y col., 2016). En este trabajo evaluamos la respuesta al tratamiento con BNZ-nps en ratones C3H/HeN infectados con TcN en fase aguda, que fueron seguidos hasta la etapa crónica a los 3 meses post infección. Este modelo es letal para el 85% de los ratones sin tratamiento. Estudiamos además la habilidad de producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) por las células tratadas, con diferentes concentraciones de BNZ-nps. Los ratones infectados y tratados con 30 dosis de BNZ-nps con las concentraciones de 10, 25 o 50 mg/kg/día, sobrevivieron en un 100%. Con 15 dosis este valor de supervivencia se mantiene, salvo con la menor concentración, donde sobreviven un 70% de los ratones. Los anticuerpos específicos para *T. cruzi*, en el suero de los ratones infectados y tratados disminuyeron comparados con los títulos de los no tratados. Con BNZ-nps 50 el 100% de los sueros fueron negativos (línea de corte = 0.04), mientras que con BNZ-nps 25 solo el 50%. La parasitemia por PCR mostró que el 80% de los ratones tratados con BNZ-nps 25 fueron negativos para TcN y un 50% con BNZ-nps 50. Los corazones de los ratones infectados no tratados, muestran focos inflamatorios múltiples y extensos y áreas con necrosis con focos de fibrosis. Con los tratamientos con BNZ-nps se observó una reversión en las alteraciones tisulares. La producción de ROS por las células VERO, tratadas con BNZ-nps 25ug/ml no muestra

diferencias significativas con las tratadas con BNZ 50ug/ml, siendo estos valores significativos respecto de la producción de ROS por las células con medio. Estos resultados llevan a la conclusión de que el tratamiento con BNZ-nps es un enfoque práctico, en diferentes dosis y esquemas de tratamiento, para tratar con éxito la enfermedad de Chagas en un modelo experimental de infección aguda por *T. cruzi* seguido hasta la fase crónica.

67 - REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR COMPUTADORA ENFOCADO A LA BÚSQUEDA DE NUEVOS TRIPANOCIDAS INHIBIDORES DE LA TRIPANOTIÓTIPIA SINTÉTICA

Alice Juan I⁽¹⁾, Morales Juan F⁽²⁾, Bellera Carolina L⁽³⁾, Talevi Alan⁽⁴⁾

⁽¹⁾LIDeB, Departamento de Cs. Biológicas Fac. de Cs Exactas UNLP. ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Bioactivos (LIDeB), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

E-mail: juanalice185@gmail.com

Las enfermedades desatendidas son un grupo de infecciones -la mayoría de ellas parasitarias- que afectan principalmente a individuos que viven en condiciones de pobreza y con escaso acceso a servicios de salud. Dos de las principales enfermedades desatendidas son la enfermedad de Chagas, endémica de países latinoamericanos, y la enfermedad del sueño, endémica de países africanos. A pesar del avance en el conocimiento de la biología de los parásitos que causan estas enfermedades, *T. cruzi* y *T. brucei*, las terapias disponibles resultan inadecuadas por su baja tasa de curación, su inadecuada vía de administración y/o sus severos efectos adversos. Por lo tanto, es necesario encontrar nuevas alternativas terapéuticas que puedan superar estas limitaciones. El reposicionamiento de drogas asistido por computadora presenta la posibilidad de detectar de manera sistemática nuevas actividades en fármacos ya conocidos y utilizados en clínica con otras indicaciones terapéuticas, reduciendo significativamente tiempos y costos. En este trabajo, presentamos los modelos in silico que

hemos desarrollado y validado para seleccionar inhibidores de la enzima Tripanotión Sintetasa (TryS). En los tripanosomátidos, a diferencia de los mamíferos, la síntesis de tripanotión es el resultado de la convergencia de las rutas metabólicas del glutatión y la espermidina. Esta reacción de conjugación es mediada por la enzima ATP- dependiente TryS; mientras que en mamíferos esa función es mediada por el glutatión, por lo que TryS se encuentra ausente. Por tal motivo resulta interesante como blanco molecular, ya que los posibles inhibidores de la TryS no tendrían efectos directos sobre los individuos. A partir de una búsqueda bibliográfica se construyó una base de datos de 109 compuestos evaluados sobre la TryS, se generaron 1000 modelos capaces de discriminar entre compuestos con y sin capacidad inhibitoria sobre esta enzima. A fin de validar los modelos se realizó una campaña piloto de cribado in silico sobre una biblioteca de compuestos conteniendo una pequeña proporción de inhibidores conocidos dispersos entre señuelos generados mediante la aplicación DUD-E. Los 10 modelos con mejor desempeño fueron combinados y aplicados al cribado in silico de la base de datos Drug Bank 3.0. Los modelos clasificaron 21 compuestos como promisorios de los cuales algunos serán adquiridos para su evaluación bioquímica y en modelos celulares.

68 - ANÁLISIS INTEGRAL DE UN BROTE DE TRICHINELLOSIS EN EL SUDOESTE BONAERENSE, ARGENTINA

Viviana R Randazzo⁽¹⁾, German Zurita⁽²⁾, Leandro Lucchi⁽³⁾, Luciano La Sala⁽⁴⁾, Cecilia Martinez⁽⁵⁾, Sixto R Costamagna⁽⁶⁾

⁽¹⁾Parasitología Clínica/ Microbiología y Parasitología .Universidad del Sur. ⁽²⁾Parasitología Clínica .Universidad Nacional del Sur. ⁽³⁾⁽⁶⁾Parasitología Clínica .Universidad Nacional del Sur. ⁽⁴⁾Epidemiología.Universidad Nacional del Sur. ⁽⁵⁾Servicio Sanidad .Universidad Nacional del Sur.

E-mail: viviana.randazzo@uns.edu.ar

La Trichinellosis es una zoonosis producida por consumo de carne de cerdo parasitada con larvas de *Trichinella* spp. En Bahía Blanca, ubicada en el sudoeste bonaerense, Argentina, se presentaron

brotes preocupantes para la salud pública regional. El OBJETIVO del estudio fue analizar las características generales de un brote de trichinellosis ocurrido en agosto de 2015 en Bahía Blanca a fin de establecer puntos críticos para futuros programas preventivos. El brote afectó a 121 personas, que ingirieron productos de carne de cerdo de origen comercial, sin inspección bromatológica oficial. La sospecha diagnóstica se basó en datos epidemiológicos (consumo de chorizo de cerdo infestado) y en síntomas y signos: extragastrointestinales (temperatura corporal axilar > 37,5°C, mialgia, edema facial) y gastrointestinales (diarrea y vómitos). Los estudios parasitológicos en el alimento fueron efectuados por digestión artificial. La tipificación de la cepa se realizó por PCR. Las muestras de sangre en los pacientes, fueron obtenidas a los 7 y 30 días post-infestación para: recuento de glóbulos blancos, porcentaje de eosinófilos, actividad sérica de creatininfosfoquinasa (CPK) y anticuerpos específicos anti-*Trichinella* por inmunofluorescencia indirecta (TIFI). La carga parasitaria del alimento fue de 207+/-20 larvas por gramo, y la tipificación molecular indicó *T. spiralis*. El 52 % de los pacientes afectados fueron de sexo masculino, y el 48% femenino. La edad promedio fue 34 años. El 53% fue sintomático, presentando el 55% de los mismos manifestaciones extragastrointestinales: cefaleas (54%) mialgias (41%) fiebre (18%) edema bipalpebral (15%). A los siete días de infestación el 45% de los pacientes presentaron leucocitosis; un 78% eosinofilia absoluta y 51% CPK elevada. En el 49% se detectaron anticuerpos específicos positivos por TIFI. El 68% recibió tratamiento antiparasitario y antiinflamatorio. Cinco pacientes ingresaron en unidad de terapia intensiva y uno falleció. Los resultados fueron similares a los de otros brotes estudiados por el grupo, sin embargo el presente presentó mayor porcentaje de formas graves. Los pacientes plurisintomáticos tuvieron leucocitosis severa con eosinofilia y CPK elevada. Las distintas modalidades terapéuticas indicadas reflejaron una falta de consenso sobre el tratamiento óptimo. El brote, en sí mismo, indicó que aún falta mucho por implementar para la prevención y el abordaje de esta parasitosis

69 -NUEVA HERRAMIENTA DE AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA (LAMP) PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA POR *Trypanosoma cruzi*

Rocío Rivero⁽¹⁾, Margarita Bisio⁽²⁾, Elsa Velázquez⁽³⁾, Mónica Inés Esteva⁽⁴⁾, Nicolás Gonzalez⁽⁵⁾, Jaime Altcheh⁽⁶⁾, Andrés Mariano Ruiz⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾ *Instituto Nacional de Parasitología.* .
⁽²⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾ *Hospital de Niños, Ricardo Gutierrez.*

E-mail: rocior_04@yahoo.com.ar

Los bebés con enfermedad de Chagas tienen buena tolerancia al tratamiento etiológico y muestran altos índices de cura, por esto la detección precoz de la transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* en recién nacidos es esencial. El diagnóstico convencional se realiza por microscopía óptica durante los primeros 8 meses de vida y por técnicas serológicas, después de este período, cuando los anticuerpos maternos desaparecen. El diagnóstico por técnicas moleculares se ha convertido en una alternativa prometedora para la detección de patógenos. Sin embargo no es factible su implementación en laboratorios periféricos de muchas localidades endémicas para esta parasitosis. Los métodos de amplificación molecular isotérmica (AI) que pueden acoplarse a sistemas de detección visual surgen como una alternativa al diagnóstico convencional dado que tienen la ventaja de no requerir termocicladores ni sistemas de detección por electroforesis en gel. El objetivo de este trabajo fue la aplicación de un ensayo de LAMP (Amplificación Isotérmica Mediada por Asas) de detección visual (Sybr Green®) para detectar la infección congénita en bebés nacidos de madre con serología reactiva para *T. cruzi*. Se utilizaron los primers reportados por Mikita y col. 2014, modificando ligeramente las condiciones. Se adicionó 1µl del intercalante SYBR Green, Invitrogen (S7563) al finalizar la reacción. Los productos de reacción se corrieron en gel de agarosa 2%. Se analizaron además los parámetros de sensibilidad y especificidad. Este ensayo mostró un límite de detección de 50 parásitos / ml de sangre y fue capaz de detectar todas las Unidades Discretas de tipificación (DTU) de *T. cruzi* y *Leishmania braziliensis*, pero no otros patógenos relacionados con las infecciones congénitas. El ensayo se probó en 27 muestras

de los bebés nacidos de madres infectadas y mostró un 100% de concordancia entre la LAMP y el diagnóstico convencional. Este es el primer estudio en detectar *T. cruzi* en muestras clínicas por LAMP, mostrando que este ensayo sería útil en la detección de la infección congénita. Las ventajas de esta nueva herramienta incluyen la rápida obtención del resultado, la no-necesidad de personal entrenado y el hecho de que se puede realizar sin equipamiento complejo de laboratorio.

70 - REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS MEDIANTE REDES FÁRMACO-PROTEÍNA

Carolina L Bellera, Alan Talevi

Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Bioactivos (LIDeB), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

E-mail: cbellera@biol.unlp.edu.ar

La enfermedad de Chagas pese a ser una de las parasitosis que mayor costo genera tanto en términos económicos como sociales, en la actualidad se dispone sólo de dos tratamientos farmacológicos aprobados, Benznidazol y Nifurtimox. Su limitada efectividad en la etapa crónica de la enfermedad y los severos efectos adversos han impulsado la búsqueda y el desarrollo de nuevos tratamientos. El Reposicionamiento de fármacos asistido por computadoras constituye una prometedora aproximación para la búsqueda de soluciones terapéuticas para enfermedades desatendidas como el Chagas, dado que permite una incorporación más directa de los resultados obtenidos a la práctica clínica, con una inversión mucho menor que la necesaria para desarrollar un fármaco de novo. En este trabajo, presentamos una red de interacciones fármaco-proteína que vincula blancos terapéuticos de distintas especies (Homo sapiens, bacterias, hongos) con blancos terapéuticos en el *Trypanosoma cruzi*. Mediante aplicación de herramientas químico- y bioinformáticas se generó una red binodal conteniendo por un lado fármacos y por otros blancos moleculares con los que interactúan o podrían interactuar los mismos. Utilizamos la base de datos de fármacos DrugBank 3.0 y la información correspondiente a

los blancos moleculares fue extraída de ChemBL y TDRTarget. Las relaciones entre los nodos de la red se establecieron a partir de la recopilación de datos experimentales de bases de datos y de bibliografía, y estos se expanden mediante proyecciones de la red bipartita a redes de una categoría que permiten incluir relaciones de similitud fármaco-fármaco y proteína-proteína. Luego, a partir de relaciones indirectas entre los elementos de la red se infieren relaciones implícitas previamente ignoradas. La red incluye: a) relaciones entre proteínas con alta similitud en su secuencia y/o su estructura terciaria presentes en *T. cruzi* y otras especies, establecidas mediante herramientas bioinformáticas (algoritmos de alineamiento local Blast, PSI Blast y aplicaciones para identificar homología estructural en base a la similitud de las estructuras tridimensionales de las proteínas, como VAST y VAST+) y; b) relaciones entre ligandos conocidos de distintos blancos moleculares de *T. cruzi*, y fármacos de uso clínico de otras categorías terapéuticas que interactúan con blancos moleculares en el hombre o en microorganismos distintos de *T. cruzi*. Estas últimas relaciones se establecieron a través de algoritmos de similitud química.

71 - EFICACIA DE LA METFORMINA CONTRA LA ECHINOCOCCOSIS QUÍSTICA EXPERIMENTAL

Julia A Loos⁽¹⁾, *Valeria A Dávila*⁽²⁾, *Judith Márquez*⁽³⁾, *Andrea C Cumino*⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾ *Universidad Nacional de Mar del Plata; CONICET.* ⁽²⁾⁽³⁾ *Universidad Nacional de Mar del Plata.*

E-mail: julialoos@hotmail.com

La metformina (Met) es un agente antihiper glucémico que posee actividad antiproliferativa sobre células cancerosas. A nivel metabólico, la droga actúa alterando el estado redox hepatocelular. Esto resulta en una reducción en la conversión de lactato y glicerol a glucosa, y disminución de la gluconeogénesis hepática. A su vez, la droga ejerce sus efectos antiproliferativos antagonizando vías de señalización celulares, tales como la vía de TOR (Target of Rapamycin). Recientemente se demostró que la Met posee actividad

antiechinococcósica in vitro sobre el estadio larvario de *E. granulosus*, agente causal de la echinococcosis quística o hidatidosis (EQ), y que modifica el metabolismo glucídico de protoescolices. En este estudio se comparó la eficacia in vivo de la Met utilizando diferentes esquemas de tratamiento en un modelo murino de EQ. La administración oral de Met desde el momento de la infección (50 mg/kg/día) y durante 60 días, exhibió propiedades quimiopreventivas contra *E. granulosus* después de 4 meses post-infección. Asimismo, el tratamiento con la droga (50 mg/kg/día) iniciado a los 4 meses post-infección (p.i.) eficazmente redujo el peso de los quistes en los ratones. Además, su combinación con la menor dosis recomendada de ABZ (5 mg/kg/día) mostró un efecto sinérgico bajo este mismo régimen de tratamiento. El efecto fue atribuido a la mayor concentración de Met en los quistes de ratones tratados con la combinación comparada con aquella encontrada en los quistes de ratones tratados únicamente con Met. Finalmente, cuando el tratamiento con Met se inició a los 6 meses p.i., utilizando distintas dosis del fármaco (50 mg/kg/día y 250 mg/kg/día), se observó una respuesta dependiente de la dosis. Bajo este esquema de tratamiento la Met indujo, en función de la dosis, un incremento del 10 y 30% en la concentración intraquística del lactato, pero no se observaron cambios en los niveles de glucosa. La Met emerge como un fármaco antiechinococcósico eficaz capaz de inhibir eficientemente el desarrollo del estadio larvario de *E. granulosus* y en combinación con ABZ podría mejorar la terapia anti-parasitaria actual.

72 - TIOSEMICARBAZONAS DERIVADAS DE 1-INDANONAS N4- ARILSUSTITUIDAS: ACCIÓN FRENTE A TRYPANOSOMA BRUCEI Y RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

María Cristina Soraires Santacruz⁽¹⁾, *Octavio Fusco*⁽²⁾, *Liliana M Finkielsztein*⁽³⁾, *Esteban J Bontempi*⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽³⁾ *Química Medicinal, Departamento de Farmacología. IQUIMEFA, UBA-CONICET. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.* ⁽²⁾ *Instituto Nacional de Parasitología "Dr. M. Fátala Chabén".* ⁽⁴⁾ *Facultad de Farmacia y Bioquímica, IQUIMEFA-UBA. E-mail: crisoraires6@hotmail.com*

La enfermedad del sueño y la enfermedad nagana son parasitosis causadas por el protozoo *Trypanosoma brucei* (T. brucei), y transmitidas por la mosca tse-tsé. Los fármacos con los que se cuenta actualmente presentan baja eficacia, numerosos efectos adversos, provocan resistencia y su respuesta es variable de acuerdo a la etapa de la enfermedad. En nuestra búsqueda de nuevas estructuras con potencial actividad frente a T. brucei, planteamos como objetivos la síntesis de una serie de tiosemicarbazonas derivadas de 1-indanonas N4-arilsustituidas (N4-TSCs), la evaluación de su actividad frente al parásito, la determinación de sus propiedades fisicoquímicas y su relación estructura-actividad. Las N4-TSCs fueron obtenidas mediante una reacción one-pot multicomponente asistida por radiación de microondas. Se obtuvieron buenos rendimientos en cortos tiempos de reacción, resultando esta metodología muy ventajosa respecto a la síntesis convencional en balón. Se determinó la actividad frente a la forma sanguínea de T. brucei cepa 9013 de las N4-TSCs sintetizadas presentando el compuesto más activo de la serie un valor de CE50=2,50 µM. Mediante cálculos in-silico se determinaron parámetros fisicoquímicos, tales como: número de aceptores y dadores de puente de hidrógeno, logaritmo del coeficiente de partición, superficie polar y volumen. Dada la correlación que existe entre las propiedades fisicoquímicas de una molécula con su perfil de biodisponibilidad, estos parámetros permiten inferir un índice de drogabilidad. Los valores obtenidos para las N4-TSCs se encuentran dentro de los rangos esperables para compuestos que podrían ser considerados potenciales fármacos. En cuanto al análisis de la relación estructura-actividad, se observó que la naturaleza del sustituyente en posición para en el grupo N4-arilo tiene un efecto importante en la actividad anti-T. brucei: los compuestos con sustituyentes aceptores de electrones fueron los más activos mientras que la presencia de sustituyentes dadores de electrones presentan una disminución notable de la actividad. Se iniciarán estudios de la relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR) con el fin de establecer los requerimientos estructurales óptimos para la actividad de estos compuestos promisorios.

73 - ANÁLISIS DE NUEVOS COMPUESTOS ORGANOMETÁLICOS COMO POTENCIALES AGENTES CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Florencia Mosquillo⁽¹⁾, *Dinorah Gambino*⁽²⁾, *Leticia Pérez-Díaz*⁽³⁾

⁽¹⁾⁽³⁾Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, UdelaR. ⁽²⁾Cátedra de Química Inorgánica, Facultad de Química, UdelaR.

E-mail: mMosquillo@fcien.edu.uy

La enfermedad de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana, es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, y constituye un importante problema de salud pública principalmente en América Latina, perteneciendo al grupo de las enfermedades desatendidas. En busca de potenciales agentes antichagásicos, se sintetizaron y caracterizaron en estado sólido y en solución compuestos organometálicos de paladio, platino y vanadio. Estos compuestos muestran valores de IC50 en el rango micromolar sobre *T. cruzi* con excelentes valores de índice de selectividad. Con el fin de profundizar en el estudio del modo de acción de estos compuestos, se utilizaron sondas fluorescentes como marcadores de apoptosis temprana y necrosis, para determinar el mecanismo de muerte celular que inducen estos complejos. En los tiempos y a las concentraciones analizadas no se observa una tendencia directa a la muerte celular por ninguno de los mecanismos estudiados. Por esta razón se decidió complementar estos ensayos con marcadores de viabilidad y vitalidad celular para determinar que efectivamente los compuestos afectan el metabolismo celular y la proliferación. Sin embargo, al aumentar la concentración y los tiempos de incubación con los compuestos metálicos se observa un aumento en la actividad metabólica celular, particularmente de la actividad esterasa. Para confirmar la hipótesis de que el aumento de actividad metabólica puede deberse a otros mecanismos de muerte celular, se tomaron imágenes de microscopía que demuestran que la morfología celular se ve alterada en presencia de los compuestos antichagásicos. Se observa en estos parásitos morfología redondeada, pérdida de flagelo y

pérdida de movilidad a medida que aumenta la concentración de los compuestos metálicos. Para ampliar este análisis biológico, se propone analizar los cambios globales en el transcriptoma y proteoma de parásitos incubados con cada complejo, con el fin de identificar posibles vías afectadas para entender el modo de acción de estos prometedores compuestos.

74 - ENTEROPARASITOSIS EN POBLACIÓN INFANTO-JUVENIL DEL PARTIDO DE LA PLATA: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE DOS TÉCNICAS DE ENRIQUECIMIENTO COPROPARASITOLÓGICAS

Andrea C Falcone⁽¹⁾, Paola Cociancic⁽²⁾, María M Zarza⁽³⁾, María L Zonta⁽⁴⁾, Graciela T Navone⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾Cepave CONICET-UNLP. ⁽³⁾Cepave UNLP. andreaalfalcone@cepave.edu.ar

INTRODUCCIÓN. Las parasitosis intestinales son de importancia en salud pública debido a su alta morbilidad en la población infanto-juvenil. Un diagnóstico certero de las infecciones parasitarias constituye un verdadero desafío para su control y prevención. **OBJETIVO.** Evaluar la eficacia de dos técnicas de enriquecimiento coproparasitológicas (sedimentación y flotación) en la concentración de un mayor número de formas evolutivas de especies parasitarias para su determinación y diagnóstico. **MÉTODOS.** Se realizó un estudio transversal en 284 niños entre 0-14 años (47,5% varones y 52,5% mujeres) durante el período 2014–2015 procedentes de barrios del Partido de La Plata (Buenos Aires, Argentina). Las muestras coproparasitológicas se procesaron por una técnica de sedimentación (Ritchie modificada) y otra de flotación (Willis o Sheather). Se aplicaron las pruebas estadísticas de Ji al cuadrado y Fisher (nivel de significación $p < 0,05$) y se calculó la sensibilidad de cada técnica como la proporción de verdaderos positivos entre los infectados. **RESULTADOS.** El 61,6% (175/284) fue positivo para alguna especie parásita. La técnica de Ritchie detectó significativamente más infecciones por protozoos (57,0% vs. 47,2%) y por helmintos (8,4% vs. 4,9%) ($p < 0,05$). En relación al número de especies, con la técnica de flotación se observaron sólo 9 de las 12 especies observadas con Ritchie. Comparando ambas técnicas, Ritchie mostró significativamente mayor recuperación para quistes de *Entamoeba coli*

(12,3% vs. 4,2%), *Endolimax nana* (11,3% vs. 4,9%), *Giardia lamblia* (19,4% vs. 14,1%) y *Blastocystis* sp. (41,2% vs. 36,6%) y huevos de *Hymenolepis nana* (2,5 % vs. 0,7%), *Ascaris lumbricoides* (3,2% vs. 2,5%) y *Trichuris trichiura* (1,1% vs. 0,7%) ($p < 0,05$), mostrando además una mayor sensibilidad para el diagnóstico de estas especies. La única infección por Ancylostomídeos se diagnosticó con ambas técnicas. Sin embargo, *Enteromonas hominis*, *Iodameba bütschlii*, y *Strongyloides stercoralis* sólo se evidenciaron con el método de Ritchie. **CONCLUSIONES.** La técnica de Ritchie resultó ser más eficaz en la detección de parásitos intestinales. Este hecho se fundamenta en que la sedimentación por centrifugación concentra la mayor cantidad de formas parasitarias y facilita su diagnóstico. Sin embargo, la implementación de diversas técnicas coproparasitológicas optimiza los resultados en el estudio de estas infecciones y da certezas en el diagnóstico individual para su prevención y control.

75 - Estudio del efecto de co-administración de Clofazimina y Benidipina con Benznidazol en un modelo murino de Chagas crónico

María L Sbaraglini⁽¹⁾, Yésica Areco⁽²⁾, Cristian Miranda⁽³⁾, Carolina L Bellera⁽⁴⁾, Carolina Carrillo⁽⁵⁾, Bruno Buchholz⁽⁶⁾, Jazmín Kelly⁽⁷⁾, Ricardo Gelpi⁽⁸⁾, Alan Talevi⁽⁹⁾, Catalina D Alba Soto⁽¹⁰⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁹⁾Laboratorio de Investigaciones y Desarrollo de Bioactivos, Facultad de Ciencias Exactas UNLP. ⁽²⁾⁽³⁾ ⁽¹⁰⁾Instituto de Microbiología y Parasitología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. ⁽⁵⁾Instituto Cesar Milstein. ⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UBA. E-mail: mariasbara@gmail.com

La enfermedad de Chagas es una endemia causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. En la actualidad, sólo existen dos fármacos aprobados para su tratamiento: Benznidazol (Bz), el tratamiento de primera línea; y Nifurtimox. La limitada efectividad en la etapa crónica de la enfermedad junto con los importantes efectos adversos de ambos fármacos ha impulsado la búsqueda y el desarrollo de nuevos tratamientos.

Nuestro grupo ha identificado mediante reposicionamiento de fármacos asistido por computadora, dos fármacos de uso clínico con actividad tripanocida: Benidipina (antihipertensivo) y Clofazimina (antibiótico). Ambos mostraron resultados alentadores tanto en modelos *in vitro* como en un modelo murino de Chagas agudo (reducción de parasitemia) y crónico (disminución de la inflamación y de la carga parasitaria en músculo estriado esquelético). En este trabajo hemos avanzado sobre el estudio de la combinación de Clofazimina y Benidipina con Bz en un modelo de infección crónica. Ratones C3H fueron infectados con tripomastigotes de *T. cruzi* de la cepa K98 (105 parásitos/ratón, intraperitoneal). La misma no es letal en la etapa aguda y genera importante daño en músculo esquelético y cardíaco en la etapa crónica. Luego de 90 días post-infección (dpi), los animales se dividieron en 5 grupos para su tratamiento por vía oral durante 30 días con Bz (75 mg/kg/día), Benidipina + Bz (15 y 30 mg/kg/día, respectivamente), Clofazimina + Bz (30 y 30 mg/kg/día, en ese orden), Bz (30 mg/kg/día) y controles (sin tratar). Se registró la evolución del peso corporal y el estado de los animales durante todo el ensayo, encontrando en el grupo tratado con Bz 75 una reducción del peso a partir del 150dpi, tal como lo ha descrito diversos autores. Se realizaron electrocardiogramas a los 120 y a los 170 dpi no encontrando diferencias significativas en la frecuencia cardíaca y la duración de los intervalos RR, PR o QT; sin embargo, el intervalo QRS presentó morfología aberrante en el 100% de los animales tratados con Bz 75, en un 50% del grupo Benidipina + Bz y en un 25% de los ratones sin tratamiento.

Asimismo, se evaluaron los niveles de la enzima creatina kinasa (CK), indicadora de daño muscular, encontrando a los 120 dpi una disminución de dicha enzima en todos los grupos que recibieron tratamiento. En síntesis, estos resultados conllevan a continuar con el estudio de la co-administración de estos fármacos en un modelo de Chagas crónico.

76 - Efecto *in vivo* e *in vitro* del Triclabendazol y la Paroxetina sobre *T. cruzi*

María L Sbaraglini⁽¹⁾, Lucas N Alberca⁽²⁾, Carolina Carrillo⁽³⁾, Catalina D Alba Soto⁽⁴⁾, Alan Talevi⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾Laboratorio de Investigaciones y Desarrollo de Bioactivos, Facultad de Ciencias Exactas UNLP. ⁽³⁾Instituto César Milstein. ⁽⁴⁾Instituto de Microbiología y Parasitología Médica, Facultad de Medicina, UBA. ⁽⁵⁾Laboratorio de Investigaciones y Desarrollo de Bioactivos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP

E-mail: mariasbara@gmail.com

La enfermedad de Chagas afecta, en Argentina, al 4% de la población. Pese al gran impacto epidemiológico, actualmente solo existen 2 fármacos disponibles para su tratamiento: Nifurtimox y Benznidazol. Dichos compuestos presentan importantes efectos adversos y limitada eficacia durante la etapa crónica de la enfermedad, haciendo evidente la necesidad de encontrar y validar nuevas terapias.

Siendo el transporte de poliaminas esencial para *T. cruzi*, las permeasas de poliaminas representan blancos moleculares atractivos en la búsqueda de nuevos fármacos. Estudios previos en nuestro grupo de trabajo han seleccionado mediante metodologías computacionales dos posibles candidatos para el tratamiento de esta enfermedad, cuyos efectos inhibitorios sobre la captación de putrescina fueron validados experimentalmente. Estos son: Paroxetina (Prx), utilizado actualmente en clínica como antidepresivo, y Triclabendazol (Trc), utilizado como antihelmíntico. Encontrar un segundo uso para fármacos ya conocidos presenta importantes ventajas frente a la búsqueda de fármacos *de novo*, principalmente porque se reducen considerablemente los costos y tiempos requeridos para el desarrollo de un medicamento innovador.

En este trabajo se estudió la actividad de Prx y Trc sobre *T. cruzi* en modelos de infección *in vitro* e *in vivo*. Inicialmente, se determinó el efecto sobre tripomastigotes de *T. cruzi* (cepa RA), encontrando para Prx una EC₅₀ de 11,26±3,76 µM y para Trc de 20,52±2,69 µM. A partir de estos resultados se evaluaron dichos fármacos en un modelo murino de infección aguda, infectando ratones de la cepa C3H con la cepa pantrópica de *T. cruzi*, RA. A los 5 días post-infección (dpi) los animales fueron divididos en 4 grupos y tratados por 5 días consecutivos con: a) Benznidazol (100 mg/kg/d); b) Trc (100mg/kg/d); c) Prx (50 mg/kg/d); d) sin tratamiento (vehículo, CMC

0,5%). Si bien el tratamiento con Prx no mostró diferencias significativas respecto del grupo control, Trc disminuyó significativamente ($p < 0.05$; 14 dpi) la parasitemia vs. el grupo no tratado. Al finalizar el experimento, el grupo sin tratar y el tratado con Prx mostraron una sobrevida del 50% sin registrarse mortalidad en los demás grupos.

77 - EFECTO ANTIPARASÍTICO DE LA VITAMINA C SOBRE *Trypanosoma cruzi*

Puente, Vanesa R (1); Demaria, María A. (1); Battle, Alcira (1); Frank, Fernanda M. (2); Dra. Lombardo, Elisa (1)

CIPYP, UBA-CONICET. HOSPITAL DE CLÍNICAS "JOSÉ DE SAN MARTÍN" (1); INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (IMPAM UBA-CONICET) (2)

La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, continua siendo un problema de salud pública. Actualmente, el único tratamiento disponible es con benznidazol (Bnz), el cual no es totalmente efectivo y posee una gran cantidad de efectos adversos. Surge entonces, la necesidad de nuevas y más eficientes alternativas terapéuticas. Conociendo el efecto anti T.cruzi de la Vitamina B12 y sabiendo que el ácido ascórbico (Vit C) potencia el efecto citotóxico de la misma, debido a la conocida acción prooxidante que un reductor puede manifestar en presencia de metales de transición como el Fe (III), Cu (II) y Co (III), nuestro objetivo fue investigar el efecto antiparasítico de la Vit C mediado por los iones de metales pesados presentes en el interior del parásito. Nuestros resultados mostraron un notable efecto inhibitorio in vitro de la vitamina C sobre los tres estadios del parásito (IC50: epi- $3,65 \pm 0,45 \mu\text{M}$; amas- $4,65 \pm 0,38 \mu\text{M}$; tripo- $50,60 \pm 2,5 \mu\text{M}$) comparado con el Bnz tomado como droga de referencia (IC50: epi- $5,86 \pm 0,93 \mu\text{M}$; amas- $4,10 \pm 0,55 \mu\text{M}$; tripo- $33,26 \pm 2,85 \mu\text{M}$). Teniendo en cuenta estos datos, empleamos ratones infectados en forma aguda con T.cruzi para evaluar el efecto del tratamiento con vit C (1,5 mg/Kg/día) in vivo administrada intraperitonealmente sola o conjuntamente con Bnz (0,75 mg/Kg/día). El tratamiento solo con vit C fue capaz de reducir en un 57% el número de parásitos/ml en el pico de la parasitemia. Se

observaron diferencias significativas en el área bajo la curva de parásitos en función del tiempo para los lotes tratados con vit C o con Bnz y vit C (41,4% y 35,4% respectivamente). Estos valores fueron muy importantes a la hora de evaluar la sobrevida de los ratones. Los animales control murieron todos entre los días 6 y 14, mientras que el 100% de los animales que recibieron la combinación de Vit C y Bnz se mantuvieron con vida hasta el día 56 postinfección, llegando al final del tratamiento, el 80% de la población (100 días postinfección). Para los animales tratados únicamente con Bnz, la sobrevida fue del 60%. Es de destacar que los ratones que recibieron el tratamiento combinado de vit C y Bnz presentaban mejor aspecto en el pelaje y comportamiento activo en comparación con los ratones de los demás lotes. Según los resultados expuestos, el tratamiento conjunto de Vit C y Bnz parecería ser una buena alternativa terapéutica para combatir la enfermedad de Chagas, permitiendo disminuir la dosis de Bnz y sus efectos adversos.

78 - Benznidazol a bajas dosis y Fenofibrato restauran parámetros inflamatorios y de la función cardíaca en un modelo crónico de Chagas experimental.

Agata Carolina Cevey⁽¹⁾, Martín Donato⁽²⁾, Federico N Penas⁽³⁾, Jimena Rada⁽⁴⁾, Diamela Paez⁽⁵⁾, Ricardo J Gelpi⁽⁶⁾, Gerardo A Mirkin⁽⁷⁾, Nora B Goren⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾ Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM). ⁽²⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾ Instituto de Fisiopatología Cardiovascular. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. E-mail: agatacevey@gmail.com

La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi* (Tc), es una de las principales causas de insuficiencia cardíaca en América Latina. Durante la infección el parásito invade el corazón y otros órganos, generando una respuesta inflamatoria. Después de la fase aguda, la infección evoluciona a una fase crónica silenciosa. El 30-40% de las personas infectadas, desarrollan una cardiopatía sintomática que causa discapacidad significativa, con alto impacto económico y social. El tratamiento farmacológico antiparasitario utilizado es Benznidazol (Bz), dada

la falta de Nifurtimox en nuestro país. Ambas drogas inducen efectos adversos de variada severidad, que pueden llevar al abandono del tratamiento. En un trabajo previo, demostramos que una dosis de Bz más baja que las reportadas para un modelo agudo de Chagas experimental, ejerce efectos antiparasitarios y antiinflamatorios, llevando a la eliminación de los parásitos y a la recuperación del tejido cardíaco. Dado que los receptores activados por factores de proliferación peroxisomal (PPAR) intervienen, entre otras funciones, en la modulación de fenómenos proinflamatorios, nos proponemos investigar el papel de un ligando (Fenofibrato, F) como posible coadyuvante de la terapéutica antiparasitaria. Para ello, desarrollamos un modelo crónico, basado en la infección de ratones BALB/c con una cepa no letal de Tc (clon K-98) durante 42 días, seguido de una reinfección con una cepa letal (RA) durante 28 días. En ese punto, se inició el tratamiento diario con Bz (25 mg/kg) o F (100 mg/Kg) durante 30 días. En este modelo, desde el punto de vista histopatológico, se observa una miocarditis difusa severa (HyE), y depósitos intensos de colágeno (Rojo Picrosirio), que se corresponden con altos niveles de expresión de ARNm de NOS2 en corazón (q-RT-PCR), y de actividad sérica de Creatina Kinasa. También se observa una disfunción ventricular izquierda moderada (Fracción de Eyección, Fracción de Acortamiento), evaluada por ecocardiografía. En forma independiente, los tratamiento Bz a dosis bajas (25 mg/kg), o F (100 mg/Kg), restauran a valores normales los parámetros histopatológicos, inflamatorios y funcionales mencionados. Estos resultados son un punto de partida para la implementación de un tratamiento conjunto, donde dosis bajas de Benznidazol puedan ser combinadas con Fenofibrato, en vistas de la resolución de la patología cardíaca en un modelo crónico de infección con *Trypanosoma cruzi*.

79 - EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE MICROALGAS COMO POTENCIALES DROGAS TRIPANOCIDAS NATURALES

Rhonda Veas⁽¹⁾, Ana Liempi⁽²⁾, Ileana Carrillo⁽³⁾, Christian Castillo⁽⁴⁾, Lisvaneth Medina⁽⁵⁾, Juan Diego Maya⁽⁶⁾, Norbel Galanti⁽⁷⁾, Veronica Rojas⁽⁸⁾, Ulrike Kemmerling⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽⁸⁾Instituto Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.. ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁹⁾Instituto de

Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

E-mail: rhondaveas@gmail.com

El tratamiento de la enfermedad de Chagas, causado por el protozoo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), está limitado a dos fármacos Benznidazol y Nifurtimox, los cuales presentan baja eficacia y diversos efectos adversos. Es por esto que existe un interés creciente en la búsqueda de compuestos naturales para la obtención de nuevas drogas con aplicaciones biomédicas, generado por la enorme diversidad y riqueza de metabolitos secundarios presentes en plantas, macroalgas y microalgas. Las microalgas son organismos unicelulares eucariontes fotosintéticos que pueden crecer de manera autotrófica o heterotrófica. Presentan distintos tipos de compuestos con potencial biológicamente activo; es así como se ha descrito biomoléculas con propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatorias y citotóxicas para células neoplásicas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto tripanocida de extractos obtenidos de distintas especies microalgales marinas y de agua dulce, sobre la forma infectiva tripomastigote de *T. cruzi*. Se generaron extractos metanólicos, etanólicos y acuosos de las microalgas: *Tetraselmis suecica* (cepa NCMA904), *Nannochloropsis oculata*, *Scenedesmus obliquus* (cepa CCMP-2399), *Arthrospira platensis* y *Chlamydomonas reinhardtii* (cepa CC® 1010TM). Tripomastigotes de *T. cruzi* (10^6 parásitos/ml) fueron incubados durante 24 horas en presencia o ausencia de concentraciones crecientes (10-500 µg/ml) de los extractos, así como de Nifurtimox (10 µM), como control positivo. La viabilidad de los parásitos fue determinada mediante el ensayo estándar MTT. Los resultados fueron analizados mediante regresión lineal para la determinación del IC50 de cada extracto. En paralelo, se analizó toxicidad de los compuestos en células de mamífero. Los extractos metanólicos de *T. suecica* y *S. obliquus*, así como aquellos etanólicos de *C. reinhardtii* y *T. suecica* presentaron IC50 en el rango de 60 a 150 µg/ml. Los demás extractos presentaron valores de IC50 superiores a los 200 µg/ml. Se concluye que los extractos provenientes de microalgas son potenciales candidatos para la obtención de moléculas tripanocidas de origen natural. Financiamiento: ELAC2014/HID-0328 (UK, NG);

ENL027/16 (UCh) (UK); DIE-PUCV 037.698-36 (UK, VR), FONDECYT 1130113 (NG), 1130189 (JDM).

80 - EVALUACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS HLF1-11 Y P113 SOBRE LEISHMANIA BRAZILIENSIS

Agustina Casasco, Bruno F Alliani, María B Palma, Fernanda M Frank, Patricia B Petray

IMPaM.

E-mail: aguscasasco@hotmail.com

La Leishmaniasis es una enfermedad de alta prevalencia en regiones tropicales y subtropicales del mundo con un gran aumento de su incidencia en los últimos años. El tratamiento recomendado basado en el uso de antimoniales pentavalentes posee limitaciones relacionadas con toxicidad y resistencia del parásito. En la búsqueda de alternativas terapéuticas, los péptidos antimicrobianos (PAMs) son candidatos atractivos debido a su actividad microbicida de amplio espectro y su función inmunomoduladora. Péptidos derivados de histatina 5 (P113) y lactoferrina (hLF1-11) humanas han sido desarrollados por la industria farmacéutica para uso clínico en infecciones bacterianas y fúngicas, aún para aplicaciones tópicas. Nuestro objetivo fue evaluar la eficacia *in vitro* de estos PAMs frente a Leishmania. Promastigotes de *L. braziliensis* fueron incubados por 48 h en presencia de P113 o hLF1-11 (0-100µg/ml) a fin de determinar la IC₅₀. Macrófagos RAW 264.7 (MØ, 5x10⁵/ml) fueron infectados por 24 h con promastigotes (1:10) y tratados inmediatamente durante 48 h con hLF1-11 o P113 (100µg/ml) incluyéndose controles sin tratar ©. Los MØ fueron teñidos con Wright-Giemsa y se determinó la tasa de infección por evaluación microscópica. Se cuantificaron los niveles de óxido nítrico en los sobrenadantes por reacción de Griess. Se determinó la citotoxicidad de los PAMs sobre la célula hospedadora cultivando los MØ sin infectar en presencia de hLF1-11 o P113 (0-1000µg/ml). El tratamiento con los PAMs redujo la viabilidad de los promastigotes con un valor de IC₅₀= 3,07 (hLF1-11) y 0,34 µg/ml (P113) lo que se vio reflejado en cambios morfológicos. Se observó una reducción del N° de amastigotes/ MØ tanto para hLF1-11 (p<0,001) como para P113

(p<0,01), registrándose una actividad anti-amastigote de 69,15 ± 5,22 % y 48,43 ± 8,40 % respectivamente. Se halló una disminución del % de células infectadas que resultó altamente significativa para hLF1-11 (p<0,0001). En los sobrenadantes de cultivo, se detectó un aumento de la producción de óxido nítrico por los MØ en ambos casos (p<0,05). Los PAMs no resultaron citotóxicos para la célula hospedadora a las concentraciones empleadas en los ensayos. Sólo se observó una disminución del 12% de la viabilidad para P113 a 1000µg/ml. Concluimos que estos péptidos sintéticos podrían constituir un atractivo recurso con potencial leishmanicida.

81 - CARACTERIZACIÓN ANTIGÉNICA DE LAS PROTEÍNAS MASP DE *Trypanosoma cruzi*

Pablo E La Spina, Ignacio M Durante, Santiago J Carmona, Fernán Agüero, Carlos A Buscaglia

IIB-INTECH.

e-mail: P.laspina93@gmail.com

Con el objeto de descubrir y caracterizar nuevos antígenos de *T. cruzi*, sintetizamos microarreglos peptídicos de alta densidad, cuya reactividad fue evaluada frente a sueros de pacientes. Entre las moléculas incluidas, unas 250 pertenecen a la familia multigénica de las MASPs ("Mucin Associated Surface Proteins"), que participan en la adhesión e invasión de *T. cruzi* en células de mamífero y están siendo exploradas como posibles antígenos vacunales. Algunas de las MASPs bajo estudio mostraron reactividad variable, aunque siempre restringida a la región central hipervariable compuesta por distintos fragmentos de secuencia que se distribuyen y combinan en forma de mosaico entre genes parálogos. Las regiones N- y C-terminales conservadas, codificantes para señales secretorias presuntamente clivadas en las proteínas maduras, no presentaron reactividad. Los 83 péptidos inmunoreactivos de MASPs se agruparon en 35 grupos utilizando criterios estructurales. Para cada uno de estos grupos se identificaron y mapearon *in silico* los motivos antigénicos. Para los 7 más antigénicos se realizaron alineamientos y se compararon contra las secuencias sin reactividad del microarreglo, encontrándose secuencias de aminoácidos mínimas que caracterizan a cada motivo.

Utilizando éstos motivos mínimos, se identificaron a las MASPs parálogas que los contienen, encontrándose que cada uno posee un patrón conservado de localización relativa. Además se estudió la distribución de los motivos más salientes del análisis entre las MASPs. Para validar estos resultados se amplificaron por PCR los péptidos antigénicos de MASPs específicas representantes de los distintos motivos, los cuales se clonaron y expresaron como proteínas de fusión a GST. El potencial diagnóstico de estos antígenos se evaluó mediante ELISA, utilizando estas proteínas recombinantes y un amplio panel de sueros Chagásicos y controles. Uno de los epitopes (de secuencia QQQSDEAQFQQ) mostró una sensibilidad del 54% y una especificidad del 100% y otro (de secuencia LQVAGIKTTTATTGDS obtenido como péptido) 81% y 98% respectivamente. Se analizaron MASPs que poseían más de un motivo obteniéndose un 50% de sensibilidad y 100% de especificidad. El resto de los grupos presentó sensibilidades menores al 15%. Se encontró en general, que los datos preliminares presentados hasta ahora tienen una buena correlación con los del microarreglo.

82 - EVALUACIÓN DE UNA NUEVA PROTEÍNA RECOMBINANTE QUIMÉRICA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS MEDIANTE INMUNOAGLUTINACION

Luz M Peverengo⁽¹⁾, Valeria Garcia⁽²⁾, Luz Rodeles⁽³⁾, Miguel Vicco⁽⁴⁾, Estefania Prochetto⁽⁵⁾, Iván Bontempi⁽⁶⁾, Gabriel Cabrera⁽⁷⁾, Verónica Gonzalez⁽⁸⁾, Iván Marcipar⁽⁹⁾, Luis Gugliotta⁽¹⁰⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁹⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL. ⁽²⁾⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾INTEC (UNL – CONICET).

E-mail: luzpeverengo@gmail.com

En la actualidad, las reacciones serológicas más utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas son: HAI, ELISA e IFI. Un método de detección alternativo, es el ensayo de inmunoaglutinación (IA). Los ensayos de IA son ensayos rápidos, fáciles de ejecutar, no requieren aparatos sofisticados ni personal especializado para su realización y permiten la lectura visual del resultado. En este trabajo, se muestran los resultados obtenidos en el proceso de síntesis de complejos látex-proteína basados en partículas

de látex carboxiladas (S8C1 y S8C2: densidad de grupos carboxilo de 5,7 y 13 10⁻⁷ mEq/cm² respectivamente) y concentraciones crecientes de una nueva proteína recombinante quimérica de *Trypanosoma cruzi* (CP3: compuesta por los antígenos TSSAII-MAP-TcD); y su aplicación en ensayos de IA. Inicialmente, se analizó el efecto de la concentración de proteína unida a la superficie de las partículas y la capacidad de discriminar entre sueros controles positivos y negativos para la enfermedad de Chagas previamente clasificados mediante ELISA, así fue como se seleccionaron los látex denominado S8C1 y S8C2 con una concentración de proteína unida de 1,58 mg/m² y 3,27 mg/m² respectivamente. Luego, en base a estos resultados, se trabajó con un panel conformado por 10 sueros positivos y 10 negativos, detectando la IA visualmente y por turbidimetría. Mediante turbidimetría, pudimos observar que se obtenían altos valores de absorbancia para sueros positivos con el complejo S8C1-CP3 (1,58 mg/m²), mientras que los valores más bajos para absorbancia de sueros negativos se obtenían con el complejo S8C2-CP3 (3,27 mg/m²). Si bien se logró discriminar entre sueros positivos y negativos, los valores de absorbancia fueron fuertemente afectados por el aspecto del suero (normal, hemolizado, icterico, lipemico). Visualmente, la IA se hizo visible a los 35-40 segundo de poner en contacto los reactivos, pero se observó que para obtener una diferenciación entre sueros positivos y negativos, el ensayo debería leerse después de los 2 minutos y hasta los 8 minutos. La intensidad de la aglutinación obtenida para los positivos se correlacionó con la intensidad de densidad óptica de ELISA. Se observó que si bien ambos complejos obtenidos permiten en su mayoría ver aglutinación concordando con la clasificación de ELISA, resultó más clara y rápida la aglutinación con el complejo S8C1-CP3 (1,58 mg/m²).

83 - ACTUALIZACIONES A LA BASE DE DATOS QUIMIOGENÓMICA TDR TARGETS

Lionel Urán Landaburu, Fernán Agüero

Laboratorio de Genómica y Bioinformática, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín, San Martín, Buenos Aires, Argentina

E-mail: lionel.u.l@gmail.com

En los últimos años, el libre acceso a información química de distintas fuentes ha abierto una oportunidad enorme para la evaluación de distintos compuestos bioactivos. Aunque gran parte de esta información sólo es válida para humanos u organismos modelo, es posible pensar en el potencial reposicionamiento de drogas a través de distintas estrategias de genómica y quimiogenómica comparativa, permitiendo la utilización de estas grandes cantidades de información para su uso en agentes etiológicos relegados. La organización y la accesibilidad (a toda la comunidad científica interesada) de una fuente que condense toda esta información es menester para garantizar el uso y todos los estudios ulteriores que permitan trazar relaciones capaces de proponer el reposicionamiento de una droga. Desde el laboratorio de Genómica y Bioinformática de la Universidad Nacional de San Martín, trabajamos en el desarrollo, mantenimiento y actualización de dicha herramienta (de acceso público a través de tdrtargets.org). El presente trabajo pretende mostrar los esfuerzos realizados en virtud de mantenimiento y actualización de la base de datos TDR Targets: Se aumentó la cantidad de compuestos bioactivos registrados a 2.101.159 (+288.432 provenientes de ChEMBL y 324.693 de distintas fuentes de screening). Una cantidad que supone un aumento del ~50% en la cantidad de registros. Se incorporaron, además, los genomas completos de los siguientes agentes etiológicos de enfermedades tropicales: Trypanosomatidos (*Leishmania infantum*, *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. donovani*); Apicomplexa (*Cryptosporidium parvum*, *C. hominis*, *Babesia bovis*, *Neospora caninum*, *Theileria parva*); Mycobacteria (*M. ulcerans*); Helminths (*Loa loa*, *Echinococcus multilocularis*, *E. granulosus*, *Schistosoma japonicum*); Bacteria (*Chlamydia trachomatis*; *Treponema pallidum*); Early Branching Eukaryotes (*Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis*); Amoebas (*Entamoeba histolytica*). También han sido añadidos los genomas de los organismos modelo *Dictyostelium discoideum* (una ameba) y *Schmidtea mediterranea* (una planaria), ambos relacionados con respectivos organismos patógenos; con el afán de realizar estudios bioinformáticos comparativos que permitan relacionar la

información producida para los primeros (generalmente en abundancia) con éstos últimos.

84 - Development of a bioinformatic pipeline for genome-wide prioritization of serological diagnostic markers in pathogens

Mauricio Brunner⁽¹⁾, Diego Ramoa⁽²⁾, Santiago J Carmona⁽³⁾, Fernan Aguero⁽⁴⁾

⁽¹⁾⁽²⁾Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Rios. ⁽³⁾⁽⁴⁾IIB-INTECH UNSAM-CONICET.

E-mail: fernan@iib.unsam.edu.ar

Background: B-cell epitopes are the parts of antigen molecules recognized by antibody molecules produced by the immune system. Knowledge of B-cell epitopes may be used in the design of vaccines and diagnostics tests. Based on the availability of complete genomes of pathogens, we proposed an improved computational strategy to prioritize potential new antigens (in the form of short peptides) at a genomic scale. To validate this tool, antigens for ten complete proteomes were ranked, following a published method (see Carmona SJ et al 2012). The results were validated with data from different databases and known, curated antigens and epitopes found in the literature. By ROC curve analysis we demonstrate the performance of the method to enrich in interesting candidate antigens at the top of the ranking. Results: In this work we will present the results of prioritizing candidate markers from the following pathogen proteomes of *Borrelia burgdorferi*, *Francisella tularensis*, *Brucella melitensis*, *Coxiella burnetti*, *Leptospira interrogans*, *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi*. For this, the tool decomposed the proteomes into short peptides (of a user-defined length) and analyzed 11 features/properties related to their antigenic potential, predicted subcellular location, immunogenic potential, and sequence similarity with other species, amongst others. Optimized feature weightings were obtained for each organism that maximize AUC values for known antigens. Conclusion: We improved a method of prioritizing of antigens and prediction of linear B-cell epitopes based on different properties of proteins, mainly those that can be assessed using the protein primary structure. An important novelty

of the method is that includes features that are new to the B-cell epitope prediction by the addition of global protein properties. This tool can be used to guide the design of peptide microarrays or other methodologies that require users to limiting the search space when looking for new antigens for serological diagnosis.

85 - PCR EN TIEMPO REAL COMO HERRAMIENTA DE DIAGNOSTICO TEMPRANO PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CONGENITA: UN ESTUDIO PROSPECTIVO OBSERVACIONAL

Margarita María Catalina Bisio, Kessler, Camila, González, Nicolas, Moroni, Samanta, Moscatelli Guillermo, Ballering, Griselda, Altcheh, Jaime

Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez

E-mail: marquib@gmail.com

La enfermedad de Chagas congénita (EChC) constituye la primera forma de aparición de nuevos casos de la enfermedad en nuestro país. El diagnóstico temprano es fundamental en la prevención y control de la EChC. El diagnóstico en menores de 8 meses se realiza por métodos parasitológicos directos (EPD) dado el pasaje pasivo de anticuerpos maternos. Estos métodos presentan variable sensibilidad relacionada directamente al operador y a la falta de sistemas de control de calidad adecuados. Los ensayos de PCR en tiempo real (PCRq) son prometedores en el diagnóstico temprano de la EChC. Sin embargo no fueron validados en los sistemas de la salud. Objetivo: Evaluar una PCRq cuantitativa dirigida a secuencias satélite de *T. cruzi* para la detección temprana de la EChC. Se realizó un estudio prospectivo observacional del 06/2012 a 01/2016. Neonatos menores de 7 meses, nacidos de madre con Chagas y consentimiento escrito informado. Estudios de laboratorio: EPD en el primer control, serología (ELISA y HAI) y PCRq (Duffy et al., 2013) en el primer control y a los 8 meses de edad. Criterio diagnóstico: a) < de 8 meses: EPD positivo, b) > de 8 meses: serología reactiva por dos técnicas. Los pacientes infectados fueron tratados con benznidazol (5-8 mg/kg/día, 60 días). Se estudiaron 149 pacientes potenciales, 140 cumplieron los criterios de inclusión 104 completaron el seguimiento hasta los 8 meses de edad. De los 104 pacientes que

completaron el seguimiento 14 presentaron EChC. En el primer control se estudiaron 104 pacientes por EPD y 85 por PCRq. El EPD presentó una sensibilidad de 79% (11/14), especificidad 100% (90/90), VPP 100% y VPN de 97% y la PCRq presentó con una sensibilidad de 100% (12/12), especificidad 100% (73/73), VPP de 100% y VPN de 100%. Se cuantificó la parasitemia por PCRq en 12 de los pacientes infectados. Se observaron parasitemias entre 4 y 2168 eq de parásitos/ml. Los pacientes tratados presentaron PCRq y serología negativas al final del seguimiento. El diagnóstico por PCRq rindió una mayor sensibilidad respecto al EPD siendo ambas técnicas altamente específicas. Los métodos convencionales (EPD más serología a los 8 meses) nos permitieron diagnosticar la infección asegurando una adecuada atención de los pacientes. La PCRq podría ser útil para adelantar el diagnóstico en centros de alta complejidad. Se requieren estudios multicéntricos para confirmar nuestros resultados.

86 - DISEÑO Y SINTESIS DE ANALOGOS QUINOLINICOS A PARTIR DE UN COMPUESTO LIDER COMO NUEVOS AGENTES TRIPANOCIDAS

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, Graciela Y Buldain⁽³⁾, Fernanda M Frank⁽⁴⁾, Silvia E Asís⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁵⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica. ⁽²⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica / IMPaM (UBA-CONICET). ⁽⁴⁾IMPaM (UBA-CONICET).

e-mail: federicorpacheco@yahoo.com.ar

La enfermedad de Chagas es una de las enfermedades abandonadas responsables del alto índice de mortalidad en países en desarrollo. En Argentina, 2 millones de casos se reportan anualmente sobre personas con esta enfermedad. El tratamiento actual constituye un problema, debido a la toxicidad de las drogas empleadas y su uso limitado. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de encontrar como alternativa terapéutica nuevas moléculas que sean de fácil obtención, económicas y de administración oral. El objetivo específico de este trabajo se basa en la síntesis y evaluación

biológica de nuevos derivados de 2- alquilaminometil-quinolina a partir de una quinolina líder sintetizada previamente que se encuentra sustituida con un grupo 6- acetamidohexametilamino. La misma demostró ser activa al ser ensayada frente a los diversos estadios parasitarios de *Trypanosoma cruzi* y al ser evaluado in vivo. A partir de esta estructura prototipo, se varió la longitud de la cadena alifática con el propósito de sintetizar nuevas moléculas activas con actividad antichagásica. Esta nueva serie fue obtenida mediante una reacción de sustitución nucleofílica entre diaminas alquílicas o cíclicas con el derivado 2- clorometilquinolina, de esta manera fue posible sintetizar 10 nuevos derivados, de los que se seleccionaron 7. Todos estos productos fueron sintetizados empleando tecnología microondas, los mismos se obtuvieron en cortos tiempos de reacción y con buenos rendimientos. Se evaluó la actividad antiparasitaria de los mismos frente al estadio parasitario de epimastigote y tripomastigote de *T. cruzi*, por otro lado, se determinó la citotoxicidad de los mismos en la línea celular Vero. De los siete compuestos evaluados, se destacaron tres compuestos por

presentar valores de IC₅₀ bajos frente a los

distintos estadios antiparasitarios y escasa citotoxicidad. Estos resultados obtenidos y la determinación del índice de selectividad demuestran que estos compuestos resultan ser más activos frente al parásito *T. cruzi*, en comparación al compuesto líder que dio origen a esta familia de compuestos.

87 - TRYPANOSOMA BRUCEI BRUCEI: NAGANA CURED BY INTRANASALLY ADMINISTERED DIMINAZENE ACETURATE (BERENIL). PRELIMINARY RESULTS

Octavio Fusco

INP Dr. Mario Fátala Chaben.

E-mail: ofusco@gmail.com

To find new drugs or formulations for sleeping sickness (humans) or nagana (animals) we investigated different formulations and delivery

routes for Berenil (Be)(standard nagana treatment). Soon after the infection the parasite cross the choroid plexus and circumventricular organs fenestrated vessels. Drugs delivered to the olfactory mucosa can get there via venous and lymphatic capillaries along olfactory neurons. We tested the protection conferred by the intranasal (i.n.) delivery of Be (20 mg/ml) plus three excipients: 1) distilled water, 2) 20% w/w thermoreversible Pluronic F-127 (gel improving muco-adhesive properties) and 3) 10% fish oil [omega-3 fatty acids, specifically docosahexaenoic acid (DHA), interacts with and affects membranes permeability]. Infected BALB/c mice (30,000 bloodstream parasites, strain 9013) receiving Be i.m. once (100 µg) were fully protected (23 days), as well as those treated i.n. with 200 µg Be plus DHA or Pluronic (every 12 hours, days 0-8). The untreated group, as well as the treated i.n. with Be or excipients alone, displayed 100% mortality within 7 days. No parasite could be detected in the blood of the surviving animals and toxic effects were not observed. Efforts to reduce the doses and drug concentration are under way. This new delivery route and formulation for an established drug could potentially revolutionize the way smallholder farmers treat nagana. At present, veterinary services are required to inject Be into sick animals, and severe reactions occur when using non sterile water to solubilize the drug. In the future, owners could dissolve and mix the components, and provide i.n. treatment by themselves, as required. The cost savings associated with this new strategy could contribute to improve food production by individual farms. Moreover, this route of drug delivery could be tested for human (adults as well as children) treatment.

88 - ELISA-FRA: EVALUACIÓN POST-TRAMIENTO EN ADULTOS INFECTADOS CRÓNICOS POR *Trypanosoma cruzi*

María Laura Bizai⁽¹⁾, Lorena Verónica Olivera⁽²⁾, Edith Ferli⁽³⁾, Evelin Arias⁽⁴⁾, Santiago Suasnabar⁽⁵⁾, Susana Denner⁽⁶⁾, Iván Marcipar⁽⁷⁾, Diana Fabbro⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ CIEN-FBCB.UNL. ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾ CIEN-FBCB.UNL.

⁽⁷⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica.
E-mail: mlbizai@fbc.unl.edu.ar

La evaluación de la eficacia del tratamiento tripanocida en infectados crónicos por *T.cruzi* se realiza mediante serología convencional (SC) (HAI-IFI-ELISA). La negativización de la misma se observa muchos años después de finalizado el tratamiento. El Antígeno Flagelar Repetitivo (FRA) es una secuencia aminoacídica muy antigénica del trypomastigote, pudiendo ser indicador de infección activa en la enfermedad de Chagas. Objetivo: Evaluar si ELISA-FRA se anticipa a la SC en la negativización post-terapéutica en adultos infectados crónicos por *T.cruzi*. Se realizó un estudio de cohorte en 84 infectados chagásicos crónicos, con seguimiento clínico-serológico de 20 años promedio. Grupo A: 38 tratados con Nx/Bz a la edad promedio $30,6 \pm 10,7$ años; B: 46 pacientes no tratados y C: 17 no infectados. Se procesaron mediante ELISA-FRA, 277 sueros provenientes de diferentes controles serológicos del seguimiento de los infectados. Las lecturas se expresaron en niveles del cut-off (DO/cut-off). Las lecturas iniciales y finales de ELISA-FRA disminuyeron significativamente en el Grupo A ($4,41 \pm 0,66$) vs ($1,54 \pm 0,23$) ($p < 0,05$). El Grupo B no mostró cambios significativos ($8,30 \pm 0,55$) vs ($7,95 \pm 0,61$) ($p = 0,43$). En 9 pacientes tratados se observó negativizaron de la SC y ELISA-FRA. Los tiempos de FRA fueron significativamente menores a los de la SC: $20,2 \pm 5,1$ años vs $25,6 \pm 3,4$ años, respectivamente. La negativización de ELISA-FRA se anticipó 5,3 años en promedio a la SC. Al analizar las muestras de cada paciente en el tiempo, se observa una caída de 2,87 unidades del cut-off entre sucesivas lecturas, por efecto del tratamiento ($p < 0,01$). En el grupo no tratado todas las mediciones, tanto de SC y ELISA-FRA, fueron (+) y constantes. ELISA-FRA se anticipó a la SC en la negativización post-tratamiento pudiendo ser de potencial utilidad en la evaluación terapéutica de infectados crónicos.

89 - EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTI *Trypanosoma cruzi* DE VERNONIA SCORPIOIDES (ASTERACEAE), UNA ESPECIE VEGETAL ARGENTINA

Jeronimo Ulloa⁽¹⁾, Flavia Redko⁽²⁾, Julia Di Paula⁽³⁾, Paula Men⁽⁴⁾, María Belén Palma⁽⁵⁾, Fernanda Frank⁽⁶⁾, Liliána Muschietti⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁷⁾ *Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacognosia. IQUIMEFA (UBA-CONICET), Junín 956 2° F (1113), Buenos Aires, Argentina.*
⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾ *Universidad de Buenos Aires. CONICET. Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPam). Paraguay 2155 13° F (1211), Buenos Aires, Argentina. E-mail: julloa@gmail.com*

Trypanosoma cruzi, un protozoo flagelado, es el agente causal de la enfermedad de Chagas. Este parásito infecta a más de 1,5 millones de personas en Argentina y a más de 5 millones en Latinoamérica lo que la convierte en un grave problema de salud pública. Los tratamientos disponibles (benznidazol y nifurtimox) poseen grandes desventajas como ser su toxicidad, la larga duración del tratamiento, su relativa eficacia y su costo y asequibilidad. De aquí que sea urgente y necesario el desarrollo de nuevos fármacos con mejores perfiles fármaco-toxicológicos. Existen diferentes estrategias para la obtención de moléculas con potencial para convertirse en medicamentos y la naturaleza ha sido una fuente muy fructífera en este sentido, en especial, los productos de origen vegetal que han sido ampliamente utilizados en terapéutica. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad tripanocida sobre *Trypanosoma cruzi* de la especie vegetal argentina *Vernonia scorpioides* (Asteraceae), empleando como estrategia metodológica el fraccionamiento guiado por bioensayo. La actividad de los extractos orgánicos [CH₂Cl₂:MeOH (1:1)] (EO) y acuoso (EA) se determinó in vitro sobre epimastigotes de *T. cruzi* utilizando la técnica de incorporación de 3H-timidina a 100, 30 y 10 µg/ml durante 72 h. EA no fue activo mientras que EO presentó una concentración inhibitoria 50% (CI₅₀) de 0,95 µg/ml. Este extracto se fraccionó por cromatografía en columna (CC; FE: Si gel 60; FM: gradiente de hexano a EtOAc 100% y EtOAc a MeOH 100%). De este fraccionamiento se obtuvieron 6 fracciones finales (F1-F6) cuya actividad tripanocida se evaluó en las mismas condiciones que para los extractos. La fracción F4 fue la más activa con un valor de CI₅₀ de 3,18 µg/ml. El análisis de F4 por cromatografía en placa delgada reveló la presencia de compuestos de naturaleza terpénica, probablemente lactonas sesquiterpénicas. Se procedió a la purificación de esta fracción por medio de CC (FE: Si gel 60; FM: gradiente de hexano a EtOAc 100% y EtOAc a

MeOH 100%). Se determinó la actividad tripanocida de estas fracciones siendo las más activas F4-IV (CI₅₀ = 3,07 µg/ml) y F4-VI (CI₅₀ = 8,04 µg/ml). Se continúa con la purificación de estas fracciones a fin de aislar e identificar el/los compuestos responsables de la actividad observada.

90 - EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO AL ANTIMONIATO DE MEGLUMINA DE PARÁSITOS DE *Leishmania* sp. OBTENIDOS DE PACIENTES DE SALTA

Ana G González Prieto⁽¹⁾, María F García Bustos⁽²⁾, Federico Ramos⁽³⁾, María C Mora⁽⁴⁾, Sibila Monroig⁽⁵⁾, Sonia Moreno⁽⁶⁾, MR Morales de Díaz⁽⁷⁾, Alejandra Barrio⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁸⁾ *Catedra de Microbiología-Fac. de Cs de la Salud-Universidad Nacional de Salta.*
⁽⁵⁾⁽⁶⁾ *Hospital San Bernardo-Min. de Salud-Salta.*
⁽⁷⁾ *Hospital Señor del Milagro-Min. de Salud-Salta.*

E-mail: gabrielagonzalezprieto@gmail.com

El tratamiento para la Leishmaniasis Tegumentaria consiste en inyecciones intramusculares de antimonio de meglumina (AM). En Salta hemos observado un 56% de falla terapéutica con AM en una cohorte de 50 pacientes (García Bustos y cols, 2015). La falla puede deberse a características del hospedador, del tratamiento y/o del parásito como insensibilidad intrínseca y/o adquisición de resistencia a la droga. No se han realizado estudios en la región para determinar si la falla se relaciona a diferencias en la susceptibilidad de las cepas implicadas. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad "in vitro" de parásitos de *Leishmania* sp. aislados de 5 pacientes de Salta y su relación con la respuesta clínica. Los aislados se obtuvieron a partir de aspirados de lesiones cutáneas y/o mucocutáneas y fueron mantenidos a 24°C en medio NNN y/o RPMI 1640, suplementado con PE y 10% de SFB. Fueron caracterizados mediante su identificación por PS-PCR (PCR específica de polimorfismo) y su curva de crecimiento. Para los ensayos de susceptibilidad al AM, se expusieron 10⁶ parásitos/mL de cada aislado a distintas concentraciones de AM (0,8-40 mg/mL) (Azeredo-Coutinho y cols, 2007). El mismo procedimiento se realizó para la cepa de referencia M2903 de

Leishmania braziliensis (LVb), susceptible al AM. Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado en placas de 96 pocillos y el recuento de parásitos en cámaras de Neubauer. Se graficaron curvas de tolerancia a la droga y se calculó el CI₅₀ (concentración que inhibe el 50% de parásitos) con el programa GraphPad Prism 6.01. El CI₅₀ de M2903 fue usado como parámetro para determinar la susceptibilidad al AM de los aislados mediante la prueba t de Student con corrección de Welch y p ≤ 0.05. Todos los parásitos analizados en este trabajo correspondieron a la especie LVb. Entre ellos, dos presentaron un CI₅₀ significativamente mayor (p ≤ 0.05) al de la cepa susceptible M2903; uno correspondiente a un paciente con falla terapéutica y el otro a una reciente reactivación clínica. Los restantes aislados fueron obtenidos de pacientes con buena respuesta al tratamiento y no se observó una diferencia significativa de su CI₅₀ con respecto al de M2903. Estos resultados nos dan un indicio de que en Salta pueden estar circulando cepas menos susceptibles al AM. Para comprobar esta hipótesis es necesario continuar con ensayos de susceptibilidad en un mayor número de aislados y realizar estudios acerca de genes de resistencia.

91 - FRECUENCIA DE ENTEROPARASITOSIS Y BÚSQUEDA DE *Schistosoma mansoni* EN LA PROVINCIA DE CORRIENTES

Cristina M Gené, María JF Rea, Adriana Inés Fleitas, C Edgardo Borda

CENTRO NACIONAL DE PARASITOLOGIA Y ENFERMEDADES TROPICALES (CENPETROP).

E-mail: cenpetrop@hotmail.com

En poblaciones urbanas y periurbanas, la presencia, persistencia y diseminación de los parásitos intestinales y la esquistosomiasis se relacionan con las características geográficas, ecológicas y factores socioeconómicos y culturales. Los parásitos intestinales se transmiten directamente por la vía fecal oral, por penetración cutánea o indirectamente por medio de vegetales y aguas contaminadas con excretas que contienen las formas infectantes. También en la esquistosomiasis por *Schistosoma mansoni* en las aguas contaminadas pueden existir los moluscos transmisores que se pueden infectar y

después liberar larvas que penetran la piel del hombre y difundirse por el torrente sanguíneo. En nuestra región también son fundamentales las migraciones de personas como trabajadores y el ecoturismo desde áreas endémicas de esquistosomiasis del Brasil. El objetivo de esta investigación es el estudio de las parasitosis intestinales y esquistosomiasis para reducir la posibilidad de su introducción e instalación en esta región de Argentina. Se colectaron muestras de pacientes sintomáticos del CENPETROP entre febrero/2015 y julio/2016. Heces preservadas y moco perianal en colecta de seis días se analizaron con las técnicas de Hoffmann, Pons & Janer y Graham y frescas con las de Baermann y Harada-Mori. Se examinaron 237 pacientes entre quince y 89 años, el 73% eran mujeres. En el 40% hubo infección parasitaria. Todos los parásitos y comensales fueron más frecuentes en los mayores de 20 años. No se observaron huevos de *S. mansoni*. Sin embargo se hallaron parásitos en 54% de los varones y 36% de las mujeres: siete helmintos y tres protozoos. En 39% hubo coinfección de dos o más especies. El protozoo *Blastocystis hominis* fue el más frecuente en todas las edades: 68%. Otros protozoos: *Giardia lamblia* 3,1% y *Cystoisospora belli* 1%. Entre los helmintos, el mayor porcentaje lo representó *Strongyloides stercoralis* con 20% del total, *Enterobius vermicularis* 9%, *Necator americanus* 4%, *Tænia saginata* 3%, *Ascaris lumbricoides* 2%, *Trichostrongylus* sp. 1% e *Hymenolepis nana* 1%. Los comensales *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* y *Chilomastix mesnili* siempre estuvieron en infecciones mixtas. Aunque no se observaron huevos de *S. mansoni*, es importante realizar estudios en zonas de riesgo para descartar posibles portadores. También en trabajos anteriores se reportaron altas tasas de prevalencia de *B. hominis* y *S. stercoralis*.

92 - ACTIVIDAD TRIPANOCIDA SOBRE *Trypanosoma cruzi* DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS AISLADAS DE ESPECIES DEL GÉNERO SMALLANTHUS

Jerónimo Ulloa⁽¹⁾, *Flavia Redko*⁽²⁾, *Keyna Urbano*⁽³⁾, *Fernanda Frank*⁽⁴⁾, *Liliana Muschietti*⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾ *Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacognosia. IQUIMEFA (UBA-CONICET),*

Junín 956 2° F (1113), Buenos Aires, Argentina.⁽³⁾⁽⁴⁾ *Universidad de Buenos Aires. CONICET. Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM). Paraguay 2155 13° F (1211), Buenos Aires, Argentina*

E-mail: julloa@gmail.com

Según la OMS, las enfermedades desatendidas siguen causando una importante morbi-mortalidad en Latinoamérica. Entre ellas, la enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, afecta particularmente al Cono Sur del continente. Las opciones terapéuticas para los pacientes chagásicos está limitada a dos fármacos (benznidazol y nifurtimox) que generan graves efectos adversos por su toxicidad y su baja eficacia, y que fueron desarrollados hace más de 40 años. En consecuencia, la búsqueda de nuevas drogas para su tratamiento es de gran importancia. Las plantas son un recurso interesante a la hora de investigar nuevas moléculas y sobre todo juegan un rol importante en el desarrollo de nuevos medicamentos. En este sentido, las lactonas sesquiterpénicas (LS) han llamado la atención por sus efectos sobre la viabilidad de microorganismos, por ejemplo, la actividad antimalárica de la artemisinina, LS aislada de la *Artemisia annua*. Las LS pertenecen a un grupo de metabolitos secundarios particularmente distribuidos en la familia Asteraceae. Se caracterizan por ser lipofílicas, relativamente estables y algunas de ellas muestran una importante selectividad hacia blancos específicos por lo que se las considera “fármaco-símil” y como potenciales moléculas líderes para el desarrollo de nuevas drogas. El objetivo de la presente investigación es evaluar la actividad tripanocida sobre distintos estadios de *T. cruzi* de LS obtenidas a partir de extractos de especies del género *Smallanthus*. Se evaluó la actividad tripanocida sobre las formas epimastigote y amastigote de *T. cruzi* mediante conteo en cámara de Neubauer, tanto de las mezclas de LS α y β obtenidas a partir de *S. connatus*, como de fluctuanina, una LS aislada de *S. sonchifolius*. Paralelamente se determinó la citotoxicidad sobre un linnea celular macrofágica. Los valores de concentración inhibitoria 50% (CI50) sobre la forma epimastigote para fluctuanina, mezcla α y mezcla β fueron de 0,75; 0,25 y 0,16 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente. En tanto sobre la forma amastigote se obtuvieron valores

de CI50 de 0,77 µg/ml para fluctuanina, 0,69 µg/ml para la mezcla α y 0,12 µg/ml para la mezcla β. La determinación de citotoxicidad para fluctuanina arrojó valores de concentración citotóxica 50% (CC50) de 364,68 µg/ml mientras que la CC50 para la mezcla α fue de 54,78 µg/ml. Estos resultados hacen de estas LS moléculas prometedoras para el desarrollo de potenciales fármacos con actividad antichagásica.

93 - Comparative characterization of B-cell responses of Chronic and Congenital Chagas Disease using high-density peptide chips

Leonel E Bracco⁽¹⁾, Juan S Mucci⁽²⁾, Jaime Altcheh⁽³⁾, Carlos A Buscaglia⁽⁴⁾, Fernán Agüero⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾IIB-INTECH - UNSAM - CONICET.

⁽³⁾Servicio de Parasitología y Chagas, Hospital de Niños Ricardo Gutierrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: lbracco@iib.unsam.edu.ar

Chagas disease, caused by infection with the parasite *Trypanosoma cruzi*, affects 8–11 million people in the Americas. Congenital Chagas Disease is a global problem, occurring on average in 5% of children born from chronically infected mothers in endemic areas and non-endemic areas, with variations depending on the region. Because maternal IgG antibodies can cross the placenta, serological tests cannot discriminate between infected and non-infected newborns. Hence, to confirm the parasite infection, mobile *T. cruzi* trypomastigotes should be sought microscopically in the cord blood or peripheral blood of newborns after a concentration procedure. These tests offer a definitive diagnosis allowing for rapid initiation of treatment. However, they require skilled personnel and assured quality control, which may not be available in primary health care facilities in rural endemic areas. Also, for infants not diagnosed at birth, diagnosis by conventional serology is recommended at 6 to 9 months of age. But it may already be too late. In programs that have been evaluated adherence to follow-up studies, less than 20% of at risk infants completed all steps of the screening algorithm. Therefore a sensitive, specific and practical screening test for newborns is needed to enable Chagas disease to be added to newborn screening programs. We have recently shown the

use of a high-density peptide microarray platform for the simultaneous identification of antigens and mapping of their linear B-cell epitopes (Carmona SJ et al 2015). This microarray covers 457 parasite proteins, including candidate antigens prioritized using a bioinformatics method (Carmona SJ et al 2012), MASP surface antigens and other known antigens. We have used the same experimental platform to map the specificities of IgG and IgM antibodies obtained from congenitally infected newborns and their (chronic) mothers. After incubation with primary sera, microarray slides were incubated with anti-human IgG antibody (Cy3-labeled) and anti-Human IgM (mu) antibody (Cy5-labeled). Analysis of the global profiles of IgG vs IgM reactivities allowed the identification of newborn-specific signals of both antibody types, which were not present in their mothers. In this presentation only a global overview of these data will be presented, no sequences or identifiers of candidate antigens or epitopes will be revealed.

94 - ESTUDIO DE DERIVADOS SINTÉTICOS DEL ALCALOIDE INDÓLICO TETRAHIDRO-β-CARBOLINA PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS Y LEISHMANIASIS

Agustina Casasco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, María B Palma⁽³⁾, Keeyna Z Urbano⁽⁴⁾, Patricia B Petray⁽⁵⁾, Fernanda M Frank⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾IMPAM. ⁽²⁾Depto Química Orgánica, FFyB, UBA. E-mail: aguscasasco@hotmail.com

La enfermedad de Chagas y la Leishmaniasis son infecciones que afectan a cientos de millones de personas en todo el mundo, siendo endémicas en nuestro país, principalmente en el norte, donde existe solapamiento de ambas. El tratamiento consiste en la utilización de fármacos cuya eficacia suele ser variable dependiendo de la especie infectante y la etapa de la infección, además de presentar diversos efectos adversos y creciente resistencia parasitaria. Diversos productos naturales como las tetrahidro-β-carbolinas, alcaloides de tipo indólico con núcleo tricíclico común, han mostrado una variedad de actividades farmacológicas entre la que destacamos la actividad frente a tripanosomátidos. Hemos sintetizado derivados

del alcaloide con el objeto de encontrar moléculas para el diseño de nuevas alternativas al tratamiento. Se realizó un screening in vitro de 12 β -carbolinas (0-150 μ M) sobre epimastigotes de *T. cruzi* (cepa RA) así como de promastigotes de *Leishmania braziliensis* y *amazonensis*. Luego de 48 h, se realizó un recuento de parásitos vivos y se calculó la concentración inhibitoria 50 (IC50) de cada compuesto. A partir de esto, se seleccionaron los compuestos más activos para su evaluación sobre amastigotes y tripomastigotes. Se determinó mediante ensayo metabólico XTT la citotoxicidad de los compuestos sobre la línea celular VERO y sobre eritrocitos humanos y murinos (0-450 μ M). Se probaron in vivo en ratones BALB/c de 6 semanas infectados con tripomastigotes de *T. cruzi* (cepa RA) los cuales fueron tratados durante 10 días. De los 12 compuestos analizados se destacaron 4 por su actividad anti *T. cruzi* (IC50=4-23 μ M) y 3 de ellos se comportaron de forma similar en *Leishmania* spp. Mostraron buenos índices de selectividad por su baja citotoxicidad sobre VERO (CC50>200 μ M) y eritrocitos (CC50>1000uM). El tratamiento con uno de ellos redujo la parasitemia a la mitad en los ratones infectados respecto al control ($p<0,05$) mejorando su sobrevivencia ($p<0,05$). De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos concluir que los compuestos activos son aquellos que se encuentran sustituidos en el anillo aromático con uno o más grupos dadores de electrones tales como el resto metoxilo, sin embargo el de mayor actividad es el compuesto que posee en el anillo aromático un grupo levemente atractor de electrones. Se puede analizar como la naturaleza de los diversos grupos influencia la actividad biológica.

95 - EVALUACION BIOLOGICA DE NUEVAS MOLECULAS ACTIVAS COMO POTENCIALES DROGAS TRIPANOCIDAS

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, Graciela Y Buldain⁽³⁾, Silvia E Asís⁽⁴⁾, Fernanda M Frank⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica. ⁽²⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica / IMPaM (UBA-CONICET). ⁽⁵⁾IMPaM (UBA-CONICET).

e-mail: federicorpacheco@yahoo.com.ar

Actualmente sólo existen dos drogas para tratar la enfermedad de Chagas, Nifurtimox y Benznidazol, ambas con importantes efectos adversos y sólo útiles en el tratamiento agudo de la enfermedad. En la búsqueda de nuevos compuestos potencialmente activos, nuestro grupo de investigación evaluó la actividad biológica de siete compuestos nitrogenados sintéticos frente a los estadios parasitarios de Epimastigote y Tripomastigote de *Trypanosoma cruzi*. Tres de estos compuestos demostraron poseer mayor actividad o similar al Benznidazol. Por otro lado, los mismos no resultaron ser citotóxicos frente a la línea celular Vero, obteniéndose valores de CC₅₀ similares o mayores a la droga de referencia utilizada. Para complementar los ensayos, se realizó el estudio de actividad biológica frente al estadio de Amastigote. Se llevó a cabo un ensayo in vivo de estos tres compuestos, para determinar si la droga al ser administrada in vivo cumplía con las mismas expectativas que los resultados arrojados en los ensayos in vitro. Se trabajó con 6 ratones C3H por grupo, todos los animales fueron infectados por vía intraperitoneal y al quinto día post infección comienza el tratamiento con 10 mg/kg/día de las drogas a evaluar, de Benznidazol y del grupo control (sin tratar) administrados por vía oral. Se pudo observar que una de las drogas logra una disminución importante de los niveles de parasitemia con respecto al grupo de ratones control, esta diferencia se hace significativa al día 14 y 38 post-infección. Estos resultados nos permiten estudiar diversos descriptores moleculares a fin de determinar si existe algún parámetro que condiciona la actividad biológica.

96 - EVALUATION OF A KIT FOR MOLECULAR DETECTION OF *Trypanosoma cruzi* DNA BASED ON LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP)

Susana Alicia Besuschio⁽¹⁾, Alberto Picado de Puig⁽²⁾, Mónica Llano Murcia⁽³⁾, Alejandro Benatar⁽⁴⁾, María de los Angeles Curto⁽⁵⁾, Israel Cruz Mata⁽⁶⁾, Concepción Puerta⁽⁷⁾, Joseph Ndung'u⁽⁸⁾, Alejandro G. Schijman⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁹⁾ *Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGEBI-CONICET, Buenos Aires Argentina.* ⁽²⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾ *Foundation for Innovative Diagnostics, Geneve, Switzerland.* ⁽³⁾⁽⁷⁾ *Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.* *E-mail: bsusanaalicia@gmail.com*

Introduction: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a molecular technology platform developed at Eiken Chemical Company (<http://www.eiken.co.jp/en>) designed for point-of-care diagnosis. **Aims:** This work aimed to evaluate sensitivity and specificity of Loopamp™ *Trypanosoma cruzi* kit using purified DNA, spiked blood and clinical specimens compared to quantitative PCR. **Methods:** LAMP reaction designed with dried reagents inside the cap of the tube, with primers targeted to T.cruzi satellite repeats, was performed at 62.5°C for 45 min and visualized by fluorescence, naked eye and agarose gel electrophoresis. Analytical sensitivity was measured in ten-fold dilutions of CLBrenner (TcVI) and Silvio X10 (Tcl) DNA (10 exp 3-10 exp⁻³ fg/ul) and compared to TaqMan duplex qPCR. Analytical specificity was measured using ten-fold dilutions of *Leishmania mexicana*, *L. donovani*, *L. major*, *L. chagasi* and *Trypanosoma rangeli* DNAs (10 exp 4 -10 fg/ul) and non-infected human DNA. Spiked blood analysis: Seronegative blood was collected in EDTA (EB) or heparine (HB) and spiked with ten-fold dilutions of CL Brener (10 exp 3 -10 exp⁻³ parasite equivalents/mL). EB-DNA was extracted using a commercial kit (Roche Diagnostics) and HB-DNA using that kit or boil&spin procedure. Stored DNA from EB clinical samples was tested: Congenital Chagas disease newborns (CCD N= 24), immunosuppressed CD patients due to organ transplantation (N= 31), AIDS (N= 4 in cerebrospinal fluid and EB) and seronegative controls (N=37). **Results:** LAMP detected up to 0.01 fg/ul of TcVI and Tcl DNA, whereas qPCR detected 0.1 fg/ul of TcVI DNA and 1 fg/ul of Tcl DNA triplicates. Analytical sensitivity was 10 exp⁻² and 10 exp⁻¹ par.eq/mL from spiked EB and HB extracted by columns, respectively, and 10 exp⁻² par.eq/mL from HB using boil&spin LAMP detected CCD and immunosuppressed CD EB samples spanning 4.82.5 to 3684 par.eq/ml, in agreement with qPCR. The kit was specific for T.cruzi DNA and samples from seropositive patients. **Conclusions:** The Loopamp™

Trypanosoma cruzi kit showed better analytical sensitivity than qPCR in purified DNA specimens, especially for Tcl DNA, whereas in clinical samples optimization of DNA extraction for LAMP must be improved yet. Work is currently undergone in this direction. Preliminary results encourage its potential application in early diagnosis of CCD and Chagas reactivation.

97 - ESTUDIOS DE SINERGISMO Y DETERMINACION DEL MECANISMO DE ACCION DE DROGAS ACTIVAS FRENTE A *Trypanosoma cruzi*

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, *Gisela C Muscia*⁽²⁾, *Graciela Y Buldain*⁽³⁾, *Silvia E Asís*⁽⁴⁾, *Fernanda M Frank*⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾ *Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica.* ⁽²⁾ *Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica / IMPaM (UBA-CONICET).* ⁽⁵⁾ *IMPaM (UBA-CONICET).*

E-mail: federicorpacheco@yahoo.com.ar

El fármaco de elección para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas es el Benznidazol, pero debido a sus efectos desfavorables y a su uso limitado en la etapa crónica de la enfermedad pone en evidencia la necesidad de encontrar nuevas drogas o combinaciones útiles para el tratamiento de esta enfermedad. Nuestro grupo determinó con anterioridad la actividad biológica de diversos derivados de quinolinas con potencial actividad tripanocida. Se destacaron con excelentes resultados de actividad tanto en ensayos in vitro como in vivo, los derivados B5, B6 y B7. Nuestro objetivo es evaluar in vitro los efectos de la acción combinada de estas drogas con Benznidazol (BNZ). Para ello se realizó un ensayo incubando 1E06 epimastigotes/mL con diferentes concentraciones (0- 100 µM) de las drogas a evaluar y de BNZ. Los resultados graficados en isobogramas nos permitirán calcular el índice de combinación adecuado y determinar si las drogas presentan efecto aditivo, de sinergismo o son antagónicas. Por otro lado, determinaremos un probable mecanismo de acción de estos compuestos, dado que los mismos son análogos a productos naturales con actividad antiparasitaria y no se conoce aún el mecanismo por el cual actúan. Cómo un primer screening determinaremos si estos compuestos

inhiben la síntesis de los ergosteroles de membrana, si los mismos inhiben a la enzima cruzipaína, o si interactúan con la hemina. Encontrar un probable mecanismo de acción nos permitirá conocer el blanco molecular y a partir de allí sintetizar nuevos compuestos más afines por esa diana biológica.

98 - ACTIVIDAD BIOLÓGICA SOBRE *Trypanosoma cruzi* Y LEISHMANIA SPP DE DERIVADOS SINTÉTICOS DE 2-FENILQUINOLINAS

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, *Gisela C Muscia*⁽²⁾, *María B Palma*⁽³⁾, *Graciela Y Buldain*⁽⁴⁾, *Silvia E Asís*⁽⁵⁾, *Fernanda M Frank*⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica. ⁽²⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica / IMPaM (UBA-CONICET). ⁽³⁾⁽⁶⁾IMPaM (UBA-CONICET). ⁽⁵⁾Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA, Dpto. Química Orgánica.

E-mail: federicorpacheco@yahoo.com.ar

La Enfermedad de Chagas y la leishmaniasis son dos enfermedades desatendidas que se encuentran ampliamente distribuida en Argentina. En los últimos 30 años sólo se han desarrollado 21 drogas para tratar estas enfermedades. Esta situación nos pone en alerta debido a la gran cantidad de casos que se informan y a la escasa disponibilidad de fármacos para llevar a cabo los tratamientos de estas parasitosis. Diversos alcaloides aislados de *Galipea longiflora* poseen un núcleo de quinolina como estructura base. Estos compuestos demostraron ser activos frente a los parásitos causante de la enfermedad de Chagas y leishmaniasis. Nuestro grupo evaluó la actividad de 11 compuestos frente a *T. cruzi* en sus tres estadios parasitarios, así como frente a *Leishmania amazonensis* y *Leishmania braziliensis* en la forma de promastigote. Se determinó además la citotoxicidad de estos compuestos frente a la línea celular RAW. Del total de compuestos evaluados, 5 de ellos se destacaron por sus valores de actividad tripanocida, 3 de esos compuestos fueron evaluados in vivo ya que demostraron tener buenos valores de IC50 y no resultaron citotóxicos. En el ensayo in vivo pudo determinarse que estos compuestos logran

reducir considerablemente la parasitemia con respecto al grupo control de ratones tratados con PBS. Por otro lado, estos compuestos también fueron evaluados como potenciales agentes leishmanicidas, obteniéndose valores de actividad prometedores. Varios compuestos fueron seleccionados para ser evaluados en el estadio siguiente. Actualmente nos encontramos determinando la actividad de estos compuestos frente a la forma intracelular de amastigote de *Leishmania* spp. Existen varios blancos moleculares en común para estos parásitos, uno de esos blancos involucra los esteroides de membrana del parásito. Nos proponemos determinar si estos compuestos son capaces de inhibir la biosíntesis de ergosterol.

99 - EL DESEMPEÑO DE DIFERENTES METODOS DE PCRS EN EL DIAGNOSTICO DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA

Carlos Lorenzo Hoyos⁽¹⁾, *Uncos, Alejandro*⁽²⁾, *Cajal Silvana P*⁽³⁾, *Caro, Nicolás*⁽⁴⁾, *Juárez, Marisa*⁽⁵⁾, *Almazán, Cristina*⁽⁶⁾, *Bracamonte, Estefanía*⁽⁷⁾, *Moya Alvarez, Agustín*⁽⁸⁾, *Gil, José Fernando*⁽⁹⁾, *Nasser, Julio R*⁽¹⁰⁾, *Krolewiecki Alejandro*⁽¹¹⁾, *Marco, Jorge D*⁽¹²⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽¹¹⁾Instituto de Investigación en enfermedades Tropicales . UNSa Sede Oran . ⁽²⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽¹²⁾Instituto de Patología Experimental-Conicet, Univ. Nacional De Salta. ⁽⁶⁾⁽¹⁰⁾Instituto de Investigación en enfermedades Tropicales . UNSa Sede Oran. Catedra de Química Biológica, Fac. Cs de Naturales, Univ. Nacional de Salta. ⁽⁹⁾Instituto de Investigaciones en Energía No Convencional-Conicet, Univ. Nacional de Salta carloslhoyos@gmail.com

La leishmaniasis tegumentaria (LT) es una enfermedad parasitaria endémica en norte de la provincia de Salta, causada principalmente por *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*. El diagnóstico se realiza por identificación de amastigotes en frotis de lesiones teñidos con Giemsa, características clínicas de las lesiones, datos epidemiológicos y la Intradermo reacción de Montenegro. El objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño diagnóstico de 2 PCR que amplifican fragmentos de 700 (PCR1) y 120 pb (PCR2) de ADN de kinetoplasto (ADNk) de

Leishmania sp., sobre hisopados de borde de lesiones. La extracción de ADN parcialmente purificado se realizó mediante sucesivos lavados con buffer de lisis y posterior incubación con proteinasa K, de acuerdo al método descrito por Higuchi (1989). Se utilizó una dilución 1/10 como templado para la amplificación. Se calculó valores de sensibilidad (S), especificidad (E) y valores predictivos negativos (VPN) y positivos (VPP) de cada PCR con relación a la presencia o ausencia de enfermedad de acuerdo a la combinación de resultados de los distintos métodos utilizados para diagnóstico. El grado de concordancia entre los métodos utilizados fue determinado mediante el Índice kappa de Cohen. Se procesaron 68 muestras de pacientes con lesiones en los que se requirió el diagnóstico diferencial de leishmaniasis entre Diciembre de 2013 y Julio de 2015. El 88% corresponden a sexo masculino y 18% a sexo femenino, la mediana de edad fue de 42 años. Los valores de S, E, VPP y VPN para PCR1 fueron de 44,2%, 92%, 90,5% y 48,9% y para PCR2 de 79%, 100%, 100% y 72% respectivamente. El valor de coeficiente de Kappa calculado teniendo en cuenta los resultados de frotis, IDRM y de las 2 PCR fue de 0,53 ($p < 0,001$). Los indicadores de desempeño diagnóstico obtenidos para las PCRs aplicadas individualmente tienen altos valores de especificidad, sin embargo la PCR1 presenta una menor sensibilidad que podría estar relacionado con dificultades en la amplificación de grandes fragmentos de ADN. Para aumentar la eficacia diagnóstica global de los casos, es necesario desarrollar e incluir diferentes o nuevos criterios al diagnóstico de esta patología.

EPIDEMIOLOGÍA Y VECTORES

100 - EVOLUCIÓN DE PRUEBAS SEROLÓGICAS Y PARASITOLÓGICAS LUEGO DEL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR *T. cruzi*: UN META-ANÁLISIS DE DATOS DE PARTICIPANTES INDIVIDUALES

(1) Yanina Sguassero, (2) Karen N Roberts, (3) Guillermina B Harvey, (4) Agustín Ciapponi, (5) Cristina B Cuesta, (6) Daniel Comandé, (7) Sergio Sosa-Estani.

(1) Centro Rosarino de Estudios Perinatales, Rosario, (2)(3)(5) Facultad de Ciencias

Económicas y Estadística, UNR, (4)(6) Instituto de Efectividad Clínica y Sanitaria, Buenos Aires, (7) Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben", Buenos Aires, Argentina.

Email: ysguassero@crep.org.ar

Introducción. El criterio de cura para infección crónica por *T. cruzi* consiste en la negativización de dos pruebas serológicas distintas. El resultado positivo de una prueba parasitológica/molecular indica falla terapéutica. Objetivo. Determinar el patrón de respuesta al tratamiento con benznidazol y/o nifurtimox de pruebas serológicas convencionales y parasitológicas/moleculares en sujetos con infección crónica por *T. cruzi*, Materiales y métodos. Revisión sistemática de estudios de seguimiento y meta-análisis de datos de participantes individuales. Eventos: prueba serológica negativa y prueba parasitológica/molecular positiva. Evaluación cualitativa: herramientas Cochrane. Análisis de sobrevida: método de Kaplan-Meier, prueba log-rank y modelo de Cox con efecto aleatorio. Estimación de Razón de Hazard (RH) con intervalo de confianza (IC) del 95%. Análisis de subgrupos: edad al tratamiento (1-19 años vs >19 años) y región geográfica (TcV prevalente vs TcII prevalente). Programa SAS 9.2. Resultados preliminares. De un total de 50 estudios, se obtuvieron las bases originales de 28 (1.344 sujetos tratados). El riesgo global de sesgo fue bajo en el 60% (17/28). Los análisis (en curso) incluyen ELISA, IFI y PCR. -Prueba ELISA: 24 estudios, 1.141 sujetos tratados. Luego de 11 años de seguimiento, la probabilidad estimada de negativizar ELISA fue 0,5 en sujetos de 1-19 años y 0,02 en >19 años. El modelo de interacción ($p=0,062$) mostró RH=6,60 para sujetos de 1-19 vs >19 años en región TcII (IC 2,03-21,42) y RH=1,71 en región TcV (IC 0,77-3,81). -Prueba IFI: 28 estudios, 799 sujetos tratados. Luego de 13 años, la probabilidad estimada de negativizar IFI fue 0,5 en sujetos de 1-19 años y 0,05 en >19 años. El modelo de interacción ($p=0,007$) mostró RH=9,37 para sujetos de 1-19 vs >19 años en región TcII (IC 3,44-25,50) y RH=1,54 en región TcV (IC 0,64-3,71). -Prueba PCR: 19 estudios, 744 sujetos tratados. La probabilidad estimada de PCR positiva en sujetos de 1-19 y >19 años fue 0,5 luego de 11 y 13 años de seguimiento, respectivamente. RH=1,41 (IC 0,82-2,43) para grupo 1-19 vs >19 años y HR=0,23 (IC 0,03-1,66)

para TcV vs TcII. La interacción entre las variables estudiadas no resultó significativa para PCR ($p=0,693$). Conclusiones. En base a este conjunto de datos, la sujetos tratados entre 1-19 años comparados con >19 años. Se observa interacción entre variables edad y región para pruebas serológicas, siendo más fuerte para IFI.

101 - ALTA PREVALENCIA DE TOXOCARIOSIS HUMANA EN ÁREAS RURALES DEL NORTE DE CORRIENTES

María de los Angeles López⁽¹⁾, María Josefina Cenoz Coni⁽²⁾, María Viviana Bojanich⁽³⁾, Gustavo J Fernández⁽⁴⁾, Sivia E Balbachan⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ *Instituto de Medicina Regional - UNNE.*

⁽³⁾ *Facultad de Ciencias Exactas - UNNE.*

E-mail: mangeslopez@yahoo.es

La toxocariosis humana es la infección accidental del hombre por *Toxocara canis* o *T. cati*, ascáridos del perro y el gato respectivamente. El hombre adquiere la infección por ingestión de huevos eliminados en las heces de los animales. La toxocariosis es más frecuente en regiones subtropicales y particularmente en poblaciones carenciadas. Objetivo: Determinar las características epidemiológicas de la toxocariosis humana en áreas rurales de Corrientes. Se muestrearon 14 parajes rurales del noroeste de la Prov. de Corrientes, con clima subtropical cálido y húmedo. Se obtuvieron muestras de suero de adultos y niños, consignando datos de sexo, edad y contacto con animales. Se investigó la presencia de anticuerpos IgG anti-*T. canis* por ELISA en fase sólida utilizando antígeno de excreción/secreción de larvas L2 y anti-IgG humana marcado con peroxidasa. Se estudiaron en total 473 individuos, 206 varones, edades entre 1 y 88 años, de los cuales 268 eran niños de 1 a 16. La seroprevalencia total encontrada fue de 48.8%, siendo 46.6% en varones, 50.5% en mujeres, 55.1% en adultos y 44.0% en niños. Al estratificar por grupo etario se encontró de 1 a 6 años ($n=72$) una prevalencia de 44.4%, de 7 a 12 años ($n=146$) 41.7% y de 13 a 16 años ($n=50$) 50.0%. La prevalencia por departamentos fue en San Cosme 66.2%, Itatí 55.8%, Capital 46.4% y San Luis del Palmar 41.8%. El 100% de la población estudiada mantenía contacto con perros y/o gatos en sus casas. La prevalencia fue

mayor en los departamentos más próximos al Río Paraná, y considerablemente mayor a la hallada en zonas rurales áridas del país, reforzando la idea de que la humedad y el clima favorable son fundamentales para la maduración de los huevos en el suelo. A diferencia de lo reportado en población urbana de Corrientes, la prevalencia es mayor en adultos que en niños, atribuible a que el trabajo rural implica contacto estrecho con el suelo contaminado. La prevalencia es mayor en niños pequeños con respecto a los de edad escolar, y aumenta en la adolescencia probablemente por el inicio temprano en las tareas rurales. Un punto a considerar es la alimentación, siendo las verduras mal lavadas y las carnes mal cocidas importantes fuentes de transmisión. Concluimos que el espacio rural ofrece características diferenciales en cuanto a la epidemiología de esta infección, el riesgo se extiende a la edad adulta, siendo la prevalencia elevada en todos los grupos, por lo cual son necesarias medidas sanitarias de control.

102 - PRESENCIA DE TRIATOMA INFESTANS Y SU ASOCIACIÓN CON FACTORES SOCIO-BIO-ECOLÓGICOS EN UN ÁREA RURAL DE LA PROVINCIA DE MENDOZA, ARGENTINA

Ana L Carbajal de la Fuente⁽¹⁾, Yael Provecho⁽²⁾, María P Fernández⁽³⁾, Marta V Cardinal⁽⁴⁾, Patricia Lencia⁽⁵⁾, Cynthia Spillmann⁽⁶⁾, Ricardo E Gürtler⁽⁷⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾ *Lab. Eco-Epidemiología, IEGEBA-CONICET, FCEyN, UBA.* ⁽⁵⁾ *División Zoonosis, Reservorios y Vectores, Ministerio de Salud de Mendoza, Mendoza, Argentina.* ⁽⁶⁾ *Programa Nacional de Chagas, Ministerio de Salud de la Nación, Córdoba, Argentina.*

E-mail: analaura.carbajal@gmail.com

La provincia de Mendoza pertenece a las zonas de alto riesgo de transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas, según datos del Ministerio de Salud de la Argentina. El Departamento Lavalle y foco de nuestro estudio es la región más endémica de la provincia y el status de la situación eco-epidemiológica a nivel rural es poco conocido. En este estudio evaluamos determinantes socio-bio-ecológicos de la infestación por *Triatoma infestans*; el estado de infección con *Trypanosoma cruzi* del vector y sus fuentes de alimentación, en una zona rural bien

definida de los Distritos La Asunción y San José. Durante abril de 2013 técnicos del Programa Provincial de Chagas realizaron un tamizaje entomológico en 198 viviendas. Se detectaron evidencias de triatominos y/o heces en 76 viviendas que fueron (re)evaluadas en mayo de 2013 mediante el método de hora/ hombre usando un aerosol desalojante. El análisis socio-demográfico de los hogares mostró una población arraigada pero envejecida, con viviendas construidas con materiales precarios (adobe, ramas palos y caña), con acceso a electricidad y una economía de subsistencia basada en la cría de cabras. La infestación domiciliar por *T. infestans* fue menor a la registrada en otras áreas endémicas argentinas, registrándose una infestación intradomiciliar del 13%, aunque el índice de infestación incluyendo intra y peridomicilio fue del 55%. Se detectó una alta abundancia de ninfas y adultos ($n = 1.686$) principalmente en peridomicilios. El análisis multivariado mostró que los corrales de cabras fueron las estructuras con mayor infestación, en coincidencia con la elevada disponibilidad de refugio dado su tamaño, abundancia de animales que albergan y sus materiales de construcción. Una PCR para detección de *T. cruzi* (kADN-PCR) reveló en ninfas y adultos de *T. infestans* ($n = 412$) una infección global de 4,1% siendo mayor en insectos colectados en domicilio (10%). El test de ELISA directo mostró que las principales fuentes de alimentación fueron gallinas (46%), perros (27%) y cabras (10%). La prevalencia de infestación estuvo principalmente asociada a la infestación de corrales de cabras. Los resultados indican que existe circulación doméstica y peridoméstica de *T. cruzi* aunque virtualmente no registramos alimentaciones en humanos excepto por una ninfa capturada en domicilio. Las actividades de control vectorial continúan siendo necesarias y justifican la implementación de acciones adicionales y una vigilancia sostenida.

103 - ASIMETRIA FLUCTUANTE EN ALAS DE *Triatoma infestans* (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) ASOCIADA A INSECTICIDAS PIRETROIDES

Julieta Nattero, Ricardo E. Gürtler

Laboratorio de Eco-Epidemiología Departamento de Ecología, Genética y Evolución Facultad de

Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires.

E-mail: jnattero@efn.uncor.edu

La asimetría fluctuante (AF) es un estimador de la inestabilidad a la que puede estar sometido un organismo en su desarrollo. Mediante este estimador se ha determinado cómo parámetros de origen natural o antropogénico pueden manifestar inestabilidad en el desarrollo. En particular para *Triatoma infestans*, principal vector de la Enfermedad de Chagas en el sur de Sudamérica, se ha encontrado que el hábitat y los hospedadores son determinantes de diferentes niveles de AF. En el marco de un proyecto donde se abordan diferentes aspectos de la evolución a la resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans*, se evaluó si dosis no letales de insecticidas son determinantes de AF en alas de poblaciones susceptibles de *T. infestans*. Se constituyeron 16 parejas de poblaciones originarias de campo con probada susceptibilidad a insecticidas. Ninfas I provenientes de estas parejas se dividieron en 2 tratamientos y se topicaron con 0,2 μ l de solución. Las ninfas del tratamiento control fueron topicadas con acetona y las tratados con 0.7 ng de deltametrina diluida en acetona. Las ninfas fueron alimentadas cada 15 días con sangre de conejo hasta adultos y las alas de hembras y machos de cada tratamiento fueron fotografiadas. Se siguió una metodología de morfometría geométrica basada en landmarks y se calculó la ocurrencia de AF de las alas para cada grupo (hembras y machos control y tratados) mediante pruebas de ANOVA mixta a 2 vías para tamaño y ANOVA de Procrusto para forma. Los índices de AF fueron comparados de a pares (hembras vs machos control, hembras vs machos tratados, hembras control vs tratadas y machos control vs tratados) con pruebas de Fisher. Para todos los grupos y tanto para tamaño como para forma de alas se encontraron evidencias altamente significativas ($p < 0.001$) de AF siendo mayor para los grupos tratados. Las comparaciones realizadas para los índices de AF mediante pruebas de Fisher mostraron que el tamaño de alas fue diferente en todos los casos ($p < 0.01$), sin embargo no se encontraron diferencias significativas para forma. Los resultados muestran que la aplicación de bajas dosis de insecticida sobre individuos susceptibles es un determinante de origen antropogénico que

genera inestabilidad durante el desarrollo en *T. infestans*. El hecho que el tamaño de las alas sea diferente entre grupos y no así la forma es consistente con la tesis que el tamaño está principalmente determinado por el ambiente mientras que la forma presenta una base genética.

104 - INFERENCIAS FILOGEOGRÁFICAS DEL VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS TRIATOMA INFESTANS A PARTIR DE DOS TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES

Cintia J Fernández, Beatriz A García

INICSA, CONICET y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina..

-mail: cjudithfernandez@gmail.com

Con el propósito de estudiar la estructura genética con un enfoque filogeográfico de poblaciones de *Triatoma infestans*, se analizaron 983 pb del gen mitocondrial ND5 y 481 pb del gen nuclear FE-1 α en 181 individuos procedentes de 22 localidades de Argentina y dos de Bolivia. La mayoría de los clusters detectados a partir de los datos del gen ND5 pertenecen a distintos linajes. Estos resultados son compatibles con poblaciones que han permanecido aisladas por períodos prolongados. El gen mitocondrial ND5 resultó más informativo que el gen nuclear FE-1 α para el análisis filogeográfico. Permitió distinguir haplogrupos espacialmente circunscriptos, dos se distribuyen hacia el sur del área estudiada y otros dos coincidentemente con lo detectado a partir de los datos del gen FE-1 α se encuentran en Bolivia y en Morajú (Santa Fé, Argentina). Sin embargo, los haplogrupos más representativos del gen nuclear FE-1 α y mitocondrial ND5 (A2 y A4, respectivamente) no muestran correlación con la distribución geográfica. En las redes de haplotipos, estos haplogrupos presentaron un patrón de topología estrellada que podría corresponderse con una expansión demográfica relativamente reciente en Argentina. Por otra parte, los resultados de los diferentes análisis realizados a partir de las secuencias de los genes ND5 y FE-1 α , la existencia de haplotipos exclusivos en Argentina y en Bolivia con un único haplotipo compartido, así como los elevados

niveles de diferenciación genética observados entre las poblaciones de ambos países son congruentes con los grupos alopatricos, andino y no andino, descritos para *T. infestans*. Los haplotipos de Bolivia no fueron basales en los árboles filogenéticos, contrariamente a lo esperado para un grupo ancestral. Así mismo, las redes mostraron a esos haplotipos en posiciones periféricas, lo que indicaría que hay una baja probabilidad de que representen la ubicación de poblaciones ancestrales. Estas evidencias no apoyarían la hipótesis del origen andino de *T. infestans*. A este respecto, el flujo génico histórico asimétrico desde la población de Morajú, que está ubicada en la zona fitogeográfica del Chaco, hacia Bolivia apoyaría la hipótesis que postula el origen chaqueño de la especie. Por otra parte, el elevado número de pasos mutacionales que separan la población de Morajú con respecto a las otras poblaciones, indica que se trataría de una población relictual que se habría mantenido aislada desde los últimos períodos de glaciación.

105 - ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN POBLACIONES SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES DE TRIATOMA INFESTANS

Carla G Grosso, María M Stroppa, Beatriz A García

INICSA, CONICET y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina..

E-mail: bgarcia@biomed.uncor.edu

Los programas de control de la transmisión de la enfermedad de Chagas promueven la eliminación de las poblaciones del insecto vector *Triatoma infestans* mediante la fumigación con insecticidas piretroides. Sin embargo, se han observado fallas en el control debido a la existencia de resistencia a los insecticidas. Entre los mecanismos que confieren resistencia a insecticidas se han descrito los que provocan un aumento de la actividad de enzimas responsables de su metabolismo. Las evidencias sugieren que las enzimas mono-oxigenasas citocromo P450 tienen comúnmente un rol primario en la resistencia a insecticidas piretroides. Incrementos en la expresión a nivel de la transcripción de genes de

citocromos P450 son frecuentemente considerados responsables de aumentar el metabolismo de insecticidas y parece ser un fenómeno común en la evolución del desarrollo de resistencia en insectos. Con el propósito de investigar la participación de los citocromos P450 en la resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans* se aisló ADN copia (ADNc) de 3 genes citocromo P450 y del gen NADPH citocromo P450 reductasa (CPR) que codifica para una enzima involucrada en la transferencia de electrones desde la forma reducida de NADPH a los citocromos P450. A partir de las secuencias de ADNc de esos genes se diseñaron primers específicos y sondas Taqman para la determinación de su expresión mediante la técnica de PCR en Tiempo Real. Las determinaciones de expresión se llevaron a cabo a partir de ARN total extraído de pooles de cuerpo graso de los insectos en distintos intervalos de tiempo después de la aplicación tópica de la dosis letal 50% del principio activo deltametrina. Los resultados, revelaron que la expresión a nivel de transcripción de los tres genes P450 fue inducida por deltametrina en poblaciones susceptibles y resistentes al insecticida. Los niveles de ARNm del gen CPR, analizados en una colonia de laboratorio susceptible a deltametrina, también se incrementaron después de la aplicación del insecticida en relación a lo detectado en los individuos no expuestos. Además, se detectó sobre-expresión de uno de los genes P450 y del gen CPR en la población que presentó el mayor grado de resistencia a deltametrina. Los resultados obtenidos apoyarían la hipótesis que postula la participación de los citocromos P450 en el desarrollo de la resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans*.

106 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN RELOJ PERIOD Y ANÁLISIS DE SU EXPRESIÓN EN TRIATOMA INFESTANS

María M Stroppa, Ignacio Gimenez, Carlota S Carriazo, Nelía M Gerez de Burgos, Beatriz A García

INICSA, CONICET y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

E-mail: mercedesstroppa@hotmail.com

Triatoma infestans es el principal vector de la enfermedad de Chagas en América del Sur. Al igual que lo observado en otras especies de insectos, muestra ritmos diarios en su comportamiento, fisiología, actividad metabólica y expresión génica. Estos ritmos están controlados por los genes que componen el reloj biológico. Con el propósito de estudiar el reloj circadiano en *T. infestans*, se identificaron y analizaron secuencias del gen reloj period (*per*) en los insectos triatominos *T. infestans* y *Rhodnius prolixus* mediante el uso de herramientas de bioinformática. Por otra parte, se amplificó un fragmento de 200 pb del gen *per* y se determinó su perfil de expresión diaria a nivel de transcripción por RT-PCR semicuantitativa en tejido nervioso de *T. infestans* adultos, bajo condiciones de fotoperíodo 12 h luz: 12 h oscuridad (LO), luz constante (LL) y oscuridad constantes (OO). Además, se investigó la presencia del transcripto *per* en diferentes tejidos de individuos adultos y en tejido nervioso de estadio ninfal V de *T. infestans*. Las regiones codificantes del gen *per* en *T. infestans* y *R. prolixus* mostraron una homología cercana al 50% con respecto a otras especies de insectos y presentaron dominios conservados de importancia funcional. El árbol filogenético agrupó a *T. infestans* y *R. prolixus* con otras especies de hemípteros. El patrón de expresión del gen *per* a nivel transcripcional mostró un pico al atardecer en los grupos LO y OO, sin observarse diferencias significativas en relación al sexo. Este ritmo de expresión de ARNm del gen *per* en el grupo LO concuerda a lo descrito en *Drosophila melanogaster* y sería compatible con la oscilación diaria en los niveles de la proteína PER encontrada por otros autores en *R. prolixus*. Además, la detección de un perfil diario de expresión del gen *per* similar en los grupos OO y LO, evidenciaría el funcionamiento del reloj endógeno aún en ausencia de señales ambientales. En relación al grupo LL no se observaron, ni en machos ni en hembras, cambios diarios en los niveles de expresión, lo cual demuestra la acción disruptiva de la luz sobre el ritmo de transcripción del gen *per*. Por otra parte, bajo la condición de fotoperíodo (LO), se determinó la presencia del transcripto *per* en músculo, cuerpo graso y gónadas de individuos adultos y en tejido nervioso de ninfas del quinto

estadio. Estos resultados indicarían actividad del reloj central en dos etapas del desarrollo evolutivo y la probable existencia de relojes periféricos.

107 - ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES DE TRIATOMA INFESTANS EN LAS ECORREGIONES DEL GRAN CHACO Y EL MONTE

Romina V Piccinali⁽¹⁾, Ana L Carbajal de la Fuente⁽²⁾, Ricardo E Gürtler⁽³⁾

⁽¹⁾DEGE, FCEyN, UBA. IEGEBA, CONICET
⁽²⁾⁽³⁾DEGE, FCEyN, UBA. IEGEBA, CONICET.

E-mail: rpicci@ege.fcen.uba.ar

El estudio de la estructura genética de *Triatoma infestans* es una herramienta fundamental para delimitar poblaciones, analizar la distribución espacial de las mismas y comprender los procesos de migración. Esta información resulta muy importante para estudiar la reinfestación de las casas tras los rociados con insecticidas e implementar mejores estrategias de control vectorial. Un estudio realizado en el Gran Chaco, permitió caracterizar la estructura genética dentro de un paraje rural a una escala muy fina (<6 km). Sin embargo, no se sabe cómo se modifica esta estructura a escalas geográficas mayores, cuando se incluyen otros parajes dentro del área. Tampoco se conoce la estructura genética de *T. infestans* en la ecorregión del Monte, en particular en la provincia de Mendoza, donde no hay información sobre la eco-epidemiología de la enfermedad de Chagas. En este trabajo caracterizamos y analizamos para 10 loci microsatélites 144 individuos de *T. infestans* capturados en 4 sitios de los parajes rurales Campo Los Toros (CT9 y CT26), Santos Lugares (LUG49) y 10 de Mayo (10M41), Pampa del Indio, Chaco (Gran Chaco) y en 2 sitios (LV-D09g y D09c) del paraje Nueva California, Dpto. Lavalle, Mendoza (Monte). Todos los pares de sitios se diferenciaron significativamente mediante un análisis de FSTs, salvo los dos sitios de Mendoza. Los valores de los FSTs fueron muy variables (0,043-0,395). Un DAPC mostró que la primera función discriminante separó Mendoza de Chaco. Alelos de los loci Tims5, Tims56 y Tims42 tuvieron el mayor efecto en este eje. La segunda función permitió diferenciar CT9 y LUG49 de CT26 y 10M41. Los alelos de mayor efecto

correspondieron a Tims42 y Tims64. Los dos sitios de Mendoza no se diferenciaron. Finalmente, un análisis bayesiano de clusters mostró la existencia de dos grupos genéticos, uno formado por todos los individuos de Mendoza y otro por los de Chaco. Un segundo análisis a menor escala permitió detectar 2 grupos genéticos en Chaco, uno con mayor proporción en individuos de CT9 y LUG49 y otro en CT26 y 10M41, y un solo grupo genético en Mendoza. Nuestros resultados muestran que: 1) las poblaciones de Gran Chaco y Monte están muy diferenciadas genéticamente; 2) dentro de Chaco hay mayor diferenciación entre sitios dentro de un paraje que entre parajes, indicando que la distancia geográfica no es necesariamente un buen predictor de la diferenciación genética y; 3) no se observó diferenciación entre sitios en Mendoza.

108 - PATRÓN DE EXCRECIÓN/DEFECACIÓN EN TRIATOMA INFESTANS SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES A DELTAMETRINA

Patricia Lobbia⁽¹⁾, Carolina Remón⁽²⁾, Gastón Mougabure-Cueto⁽³⁾

⁽¹⁾⁽³⁾CONICET - Centro de Referencia de Vectores, Programa Nacional de Chagas, Ministerio de Salud de la Nación. ⁽²⁾Centro de Referencia de Vectores, Programa Nacional de Chagas, Ministerio de Salud de la Nación.

E-mail: patalobbia@gmail.com

La resistencia a insecticidas detectada en *Triatoma infestans* de diferentes zonas de Argentina se impone como una de las principales causas de las fallas de control químico observada en la región del Gran Chaco. La resistencia a insecticidas es un proceso evolutivo donde el factor de cambio en la estructura poblacional es la selección, por el insecticida, de insectos genéticamente resistentes. Aunque los individuos resistentes tienen ventaja selectiva sobre los susceptibles en presencia del insecticida, se asume que en un ambiente sin tóxico el fenotipo resistente tiene un costo adaptativo que resulta en una desventaja selectiva en relación al susceptible. El costo de la resistencia es entendido en términos de efectos pleiotrópicos de los genes resistentes. Resulta relevante conocer si, además de los procesos que confieren

resistencia, *T. infestans* resistentes presentan alteraciones en otros procesos biológicos. Entre los procesos a estudiar su alteración, son de interés aquellos que tienen importancia epidemiológica. En este trabajo se estudió el patrón de excreción/defecación en *T. infestans* resistentes a deltametrina. Se trabajó con dos colonias resistentes con origen en el Dpto. Gral. Güemes, Chaco, y una colonia susceptible con el mismo origen departamental. Insectos en 5to estadio ninfal, colocados en tubos de plástico y con acceso a una paloma por la abertura del tubo, se alimentaron a repleción y se registraron las deyecciones durante la alimentación, durante una hora luego de la alimentación y a las 24hs de la alimentación. Para cada individuo se registraron: peso antes y después de la alimentación, peso a una hora y a 24hs post-alimentación; longitud antes y luego de 24hs de la alimentación; tiempo de alimentación; número, color y tiempo de las deyecciones emitidas durante la alimentación y durante una hora post-alimentación; peso de deyecciones durante alimentación; peso total de deyecciones durante la hora post-alimentación. Estas variables describieron el patrón de excreción/defecación de cada colonia. Los resultados mostraron diferencias significativas entre insectos susceptibles y resistentes a deltametrina. En comparación con los insectos susceptibles, los insectos resistentes se alimentaron menos, emitieron menos deyecciones y más tarde respecto de la alimentación, y defecaron en menor proporción. Estos resultados muestran que *T. infestans* resistentes a deltametrina poseen una menor capacidad vectorial que *T. infestans* susceptibles.

109 - DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE TRATADA PARA EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN TRIATOMA INFESTANS.

Carolina Remón⁽¹⁾, *Patricia Lobbia*⁽²⁾, *Gastón Mougabure-Cueto*⁽³⁾

⁽¹⁾*Centro de Referencia de Vectores, Programa Nacional de Chagas, Ministerio de Salud de la Nación.* ⁽²⁾⁽³⁾*CONICET - Centro de Referencia de Vectores, Programa Nacional de Chagas, Ministerio de Salud de la Nación.*

E-mail: remon.caro@gmail.com

En los últimos años se detectaron varios focos de *Triatoma infestans* resistentes a insecticidas. El monitoreo toxicológico de los insectos sometidos a control es prioritario para una estrategia de manejo de la resistencia. El objetivo del trabajo fue desarrollar un bioensayo de exposición a papeles impregnados con insecticidas para la evaluación, mediante concentración discriminante, de resistencia a deltametrina en *T. infestans* provenientes de campo. Para considerar la evaluación de insectos de campo se estudió la susceptibilidad a deltametrina en cada estadio inmaduro y en adultos considerando a) edad (temprana y avanzada) y b) estado nutricional (ayunados y alimentados), conformando 4 grupos experimentales. En el bioensayo, grupos de insectos caminaron durante 1 hora sobre papeles de filtro impregnados con una solución de deltametrina en aceite de silicona y cloroformo (un grupo por concentración). Luego, se retiraron los insectos de los papeles y se observó la mortalidad a las 24, 48 y 72 hs. Con los datos de mortalidad/concentración se determinó la susceptibilidad a deltametrina (CL50 y CL99) para cada grupo experimental en cada estadio y tiempo. La comparación de la susceptibilidad entre edades, estados nutricionales y tiempos post-exposición mostró que, con esta metodología, la edad y el estado nutricional no afectan la susceptibilidad a deltametrina en ningún estado de desarrollo, pero la respuesta tóxica depende del tiempo de registro de mortalidad. Se agruparon las edades y los estados nutricionales para cada estadio y tiempo y se obtuvieron nuevamente las susceptibilidades de cada estadio. En todos los tiempos post-exposición, las ninfas I fueron las más susceptibles y las ninfas IV fueron las menos susceptibles. Con los valores de las CL99s se determinó una concentración discriminante (CD) de 0,36% que permite evaluar a todos los estadios a las 24hs y a las nV y adultos a las 72hs. El bioensayo y la CD fueron validados evaluando individuos obtenidos al azar de dos colonias resistentes a deltametrina (una de baja y otra de alta resistencia). La mortalidad causada por la CD permitió discriminar a las dos colonias resistentes. La discriminación de la colonia de baja resistencia evidencia la alta sensibilidad del método. En conclusión, se desarrolló una metodología de exposición a papeles impregnados con insecticida y un protocolo para realizar monitoreos de resistencia a deltametrina

en *T. infestans* utilizando insectos provenientes del campo.

110 - USO DE MEDIDAS LINEALES DE LA CABEZA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL SUBCOMPLEJO SORDIDA (HEMIPTERA: REDUVIIDAE)

Julieta Nattero⁽¹⁾, *Romina V. Piccinali*⁽²⁾, *Catarina Macedo Lopes*⁽³⁾, *María Laura Hernández*⁽⁴⁾, *Luciana Abraham*⁽⁵⁾, *Patricia A. Lobbia*⁽⁶⁾, *Claudia S. Rodríguez*⁽⁷⁾, *Ana Laura Carbajal de la Fuente*⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁸⁾Laboratorio de Eco-Epidemiología, Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) (UBA-CONICET), Argentina. ⁽³⁾Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera- (IOCFIOCRUZ, RJ), Brasil. ⁽⁴⁾⁽⁵⁾Criar (CONICET) Anillaco, La Rioja, Argentina. ⁽⁶⁾Centro de Referencia de Vectores (CeReVe), Ministerio de Salud de la Nación Hospital Colonia, Pabellón Rawson calle s/n, Santa María de Punilla, Córdoba, Argentina. ⁽⁷⁾Cátedra de Introducción a la Biología. IIByT (UNC-CONICET), Argentina. E-mail: jnattero@efn.uncor.edu

Triatoma es el género más conspicuo de la subfamilia Triatominae, con 72 especies, 8 complejos y 8 subcomplejos. El subcomplejo Sordida agrupa 4 especies, 2 de las cuales, *T. sordida* (Ts) y *T. garciabesi* (Tg), presentan superposición parcial en su área de distribución, una alta similitud morfológica y fueron consideradas una única especie hasta que Tg fue revalidada principalmente por diferencias en la genitalia masculina. Por otro lado, en base a características citogenéticas y moleculares, se ha propuesto a Ts de Argentina (TsArg) como una especie nueva, separándola de la que ocupa el resto de su distribución (Brasil, Paraguay, Bolivia y Uruguay), Ts sensu stricto (Ts ss). Tradicionalmente se utilizan medidas lineales de la cabeza para diferenciar Tg de Ts, es por eso que el presente trabajo propone evaluar si las medidas lineales de la cabeza son buenos marcadores fenotípicos para identificar TsArg, Ts ss y Tg. El largo y ancho de la cabeza, el largo y ancho de región preocular y área de la cabeza fueron medidos en un total de 121 machos (41 Ts ss, 24 TsArg y 56 Tg) de 16 poblaciones

diferentes (5 Ts ss, 5 TsArg y 6 Tg) a lo largo del rango de distribución de cada especie. Con estas variables se realizaron análisis discriminantes (DFA) para comparar, por un lado TsArg y Ts ss y por otro TsArg y Tg. El primer DFA, mostró que TsArg se diferencia de Ts ss con un porcentaje de individuos correctamente clasificados del 80%. La variable que mejor definió el 1º eje del DFA fue el largo de la región preocular. En cambio, en el segundo DFA, el porcentaje de individuos correctamente clasificados fue cercano a la mitad (54%). La variable que mejor definió el 1º eje fue el ancho de la cabeza. Considerando características citogenéticas, dos de las poblaciones incluidas de Tg fueron identificadas por medidas lineales de la cabeza como Ts. El análisis de estas 2 poblaciones mostro que el 73% de los individuos se corresponden con características de TsArg. La propuesta de considerar a TsArg como una especie diferente de Ts ss estaría apoyada por características morfológicas de la cabeza. Sin embargo, medidas lineales de la cabeza no serían marcadores fenotípicos adecuados para diferenciar Tg de TsArg, como ocurre con ciertas características citogenéticas. Considerando su uso sencillo y de bajo costo, estudios adicionales de marcadores morfológicos para diferenciar estas especies están siendo elaborados.

111 - IMPLEMENTACION DE LOS MARCADORES MOLECULARES ISSR EN EL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL A ESCALA GEOGRAFICA FINA EN TRIATOMA INFESTANS

Alicia R Pérez de Rosas, María F Restelli, Beatriz A García

INICSA, CONICET y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

E-mail: arperez@biomed.fcm.unc.edu.ar

El análisis de la estructura genética de poblaciones del vector de la enfermedad de Chagas, *Triatoma infestans*, puede proveer información sobre el origen de los insectos que reinfestan las áreas tratadas con insecticidas. Las secuencias entre repeticiones simples (ISSRs) podrían ser marcadores genéticos útiles en el

análisis de poblaciones de este insecto vector debido a la alta variabilidad que permiten detectar y, además, son sencillos de implementar, eficientes y de bajo costo. Con el propósito de evaluar la utilidad estos marcadores para analizar la estructura genética poblacional a escala microgeográfica en *T. infestans*, inicialmente se probaron un total de 30 primers, de los cuales 11 permitieron obtener bandas nítidas y polimórficas. Cinco de esos primers permitieron amplificar un total de 90 bandas polimórficas a partir de 134 individuos capturados en diferentes ambientes peri-domésticos de 9 viviendas de la localidad de San Martín (Capayán, Catamarca). Los niveles de diversidad genética fueron moderados en comparación a los observados en otros insectos. El valor promedio de diferenciación genética ($\Phi_{ST} = 0,26$, $P = 0,01$) y los valores obtenidos entre pares de ambientes peridomésticos indicaron niveles significativos de diferenciación genética ($P < 0,001$). La ausencia de correlación significativa entre las distancias genéticas y las distancias geográficas ($r = 0,09$, $P = 0,31$) indicó que las frecuencias alélicas en cada sitio de captura tienden a derivar independientemente sin relación a las distancias geográficas que las separan. Estos resultados confirman la existencia de un alto grado de subdivisión de las poblaciones en subunidades de apareamiento con intercambio génico restringido. Por otra parte, el análisis de autocorrelación espacial reveló que la dispersión activa de *T. infestans* ocurriría dentro de los 469 m, sugiriendo que el rociado con insecticidas debería extenderse en un rango de aproximadamente 500 m alrededor del área infestada. Mediante el método bayesiano de agrupamiento de individuos se observó que principalmente los corrales de cabras compartían ancestría con otros ambientes peri-domésticos, apoyando la hipótesis de que los corrales de cabras tendrían un rol importante en el proceso de reinfestación. Estos resultados sugieren que la vigilancia entomológica de estos sitios peridomésticos debe ser considerada de gran importancia en los programas de control de *T. infestans*.

Rivera Maximiliano⁽¹⁾, *Sánchez Paola*⁽²⁾, *Sullings Analía*⁽³⁾, *Díaz Valeria*⁽⁴⁾, *Salaberry María Inés*⁽⁵⁾, *Begoña Moja*⁽⁶⁾, *Giménez Sandra*⁽⁷⁾, *Quesada Irma*⁽⁸⁾, *Corbo Estela*⁽⁹⁾, *Ventura Marina*⁽¹⁰⁾, *Lavayén Silvina*⁽¹¹⁾, *Silva Andrea*⁽¹²⁾, *Clementea Marina*⁽¹³⁾, *Angel Sergio*⁽¹⁴⁾

⁽¹⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾ IIB-INTECH CONICET-UNSAM.
⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾ Hospital Municipal San Vicente de Paul, Chascomus- Provincia de Buenos Aires..⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ Instituto Nacional de Epidemiología Dr. Juan H. Jara, Mar del Plata- Argentina.

E-mail: maximiliano.rivera@intech.gov.ar

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más difundidas en el mundo. Se estima que más de un tercio de la población mundial está infectada, donde las tasas de infección varían entre las regiones debido a hábitos y al hábitat. La infección por *Toxoplasma gondii* es, típicamente asintomática pero presenta serios problemas en personas con el sistema inmune comprometido y en el feto cuando la infección es congénita, lo que resulta en serias malformaciones inclusive el aborto. En Argentina, se han encontrado valores de prevalencia de anticuerpos en embarazadas de 47% en CABA, 51.7% en toda la provincia de Buenos Aires, 39.7% en la ciudad de Jujuy, 28.5% en la ciudad de Resistencia y 23.8% en la provincia del Chaco, y 42.2% en la provincia de Santa Fe. En lo referido a la Ciudad de Chascomús y alrededores, zona rural, no hay estadísticas precisas que indiquen el grado de prevalencia de la misma. Por lo mencionado anteriormente, el objetivo del presente trabajo es evaluar el estado de la infección toxoplásmica en mujeres embarazadas que se atienden en el Hospital Municipal San Vicente de Paul de dicha ciudad durante el período 2016-2019 e identificar factores de riesgo vinculados a dicha infección. Hasta el momento se evaluaron solo 51 mujeres embarazadas. El porcentaje de infección hallado fue de 41.18% (IC-95: 27.58-55.83%), mediante la técnica de hemaglutinación indirecta (HAI). De los 51 individuos solo una es vegetariano. Todas comen carnes de bovinos y de aves. Si bien son resultados preliminares, hasta el momento, como factor de riesgo solo se detectó el consumo frecuente de carne de cerdo ($\chi^2: 7.85$, $p: 0.049$). Financiación: PIDC 0025-FONCyT-MINCYT

113 - EPIDEMIOLOGICAL MODELING OF *Trypanosoma cruzi* TRANSMISSION: REINFECTIONS IN THE CHRONIC PHASE EXPLAINS THE FREQUENCY OF MIXED INFECTIONS IN HUMANS

Nicolas Tomasini⁽¹⁾, Paula G Ragone⁽²⁾, Sebastien Groubier⁽³⁾, Juan P Aparicio⁽⁴⁾, Patricio Diosque⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾Instituto de Patología Experimental - Facultad de Cs de la Salud - Univesidad Nacional de Salta - CONICET. ⁽³⁾UMR 228 ESPACE-DEV-IMAGES, 'Institut de Modélisation et d'Analyses en Géo-Environnement et Santé', Université de Perpignan Via Domitia, Perpignan, France. ⁽⁴⁾Instituto de Investigaciones en Energía no Convencional, Universidad Nacional de Salta – CONICET.

E-mail: nicotomasini@yahoo.com.ar

People living in areas with active vector-borne transmission of Chagas disease are subject to multiple contacts with its causative agent, *Trypanosoma cruzi*. Animal models of the disease showed that reinfections by *T. cruzi* are possible although they may display lower or undetected parasitaemia. In humans, although reinfections may have major public health implications, as they are thought to increase the risk of chronic manifestations of the disease, there is little quantitative knowledge about their frequency and the timing of parasite re-inoculation in the course of the disease. We implemented stochastic agent-based models to estimate the rate of re-infection in humans and to assess how frequent are secondary infections during the acute and chronic stages of the disease according to several alternative hypotheses on the adaptive immune response following a primary infection. By using a hybrid genetic algorithm, the models were fitted to epidemiological data of Argentinean rural villages where mixed infections by different genotypes of *T. cruzi* have been reported to reach 56% in humans. To explain such a level of mixed-infections, the best model predicted an average of 0.04 annual reinfection per person with most of secondary infections occurring in the chronic phase. The main reason for this relatively low frequency of annual re-infections is the weak efficiency of the stercorarian mode of transmission of *T. cruzi* that strongly limit re-inoculation, rather than the adaptive immune response that the parasite was estimated to escape in at least 20%

of the events of re-inoculation. Concluding, a few re-infections typically occur per individual, mostly in the chronic phase of the disease. The provided estimates are of particular interest for vaccine development as they provide indirect knowledge on adaptive immunity in the field, and they can help understanding the higher risk of chronic disease manifestations suffered by infected people living in endemic areas.

114 - ANÁLISIS DE LA ASOCIACIÓN DE FACTORES BIOLÓGICOS Y DEMOGRÁFICOS Y LA TRANSMISIÓN CONGÉNITA DE *Trypanosoma cruzi*

Emmaría Danesi⁽¹⁾, Sergio Sosa-Estani⁽²⁾

⁽¹⁾Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación de Endemo-epidemias (CENDIE-ANLIS).

⁽²⁾Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chabén" (INP-ANLIS).

E-mail: emmariadanesi@gmail.com

INTRODUCCIÓN: La transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* es actualmente la principal vía de generación de nuevos casos de Chagas, que en Argentina se estiman alrededor de los 1000 casos anuales. **OBJETIVO:** Analizar variables biológicas y demográficas de niños y sus madres para establecer su posible asociación a la transmisión congénita de *T. cruzi*. **METODOLOGÍA*:** Estudio observacional retrospectivo sobre una base de datos secundaria. Se realizó un análisis univariado de cada variable y bivariado en función del evento de transmisión congénita. **RESULTADOS:** Se estudiaron 2120 niños y sus madres, residentes en zonas urbanas de Argentina (92,3% CABA y Buenos Aires) entre 1989 y 2016. La tasa de transmisión congénita de *T. cruzi* fue de 9,1%. Las madres habían nacido en Argentina (60,2%), Bolivia (29,1%) y Paraguay (10,3%), y alrededor del 30% en zonas de bajo-nulo riesgo vectorial. La edad materna media al parto fue 28,9±6,6 años, similar a la media nacional y entre grupos según infección. No se encontraron diferencias significativas entre grupos con y sin transmisión congénita en las variables de edad gestacional, peso al nacer, tipo de parto, número de hijo y sexo del bebé. Se observó diferencia significativa en la tasa de transmisión congénita considerando país de origen materno (10,8% Argentina, 7,1%

Bolivia, 5,0% Paraguay; $p=0,003$) y riesgo vectorial del lugar de nacimiento (11,1% bajo-nulo, 8,3% medio-alto; $p=0,033$). Las variables de antecedentes familiares también mostraron una asociación significativa, habiendo un 67,7% de niños infectados que tienen otro hermano infectado congénitamente y un 64,9% abuela materna infectada por *T.cruzi*. Las asociaciones encontradas estarían mostrando una dinámica de transmisión congénita diferente en el ámbito urbano, con la presentación de “fenómenos de cluster”, que implica una mayor probabilidad de transmisión en grupos familiares donde ya hubo un antecedente de infección congénita. Este fenómeno estaría mediado por factores parasitarios como inmunes maternos, los cuales son materia de investigación actual. Las observaciones acá expuestas son un aporte nuevo y de carácter exploratorio en el plano epidemiológico, cuya ampliación permitirá su mejor comprensión y utilidad en estrategias de salud pública para el control del Chagas congénito.

*Este trabajo forma parte de la tesis de Maestría en Epidemiología, Gestión y Políticas de Salud de la UNLa, que ya fue presentado para ser sometido a la instancia de defensa pública.

115 - SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN DE STRONGYLOIDES STERCORALIS EN LA LOCALIDAD LA UNIÓN EN LA PROVINCIA DE SALTA

Pedro Emanuel Fleitas⁽¹⁾, Mariana Fernández⁽²⁾, Nicolás Caro⁽³⁾, Marisa Juárez⁽⁴⁾, Pamela Cajal⁽⁵⁾, María Canabire⁽⁶⁾, Noelia Florida⁽⁷⁾, Paola Vargas⁽⁸⁾, Ruben Oscar Cimino⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽³⁾ *Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Naturales; Universidad Nacional de Salta.* ⁽²⁾ *Asociación para el Desarrollo Sanitario Regional.* ^{(3) (4) (5) (6) (7)(8)} *Instituto de Investigación en Enfermedades Tropicales-unas.*

E-mail: pedro_fleit@yahoo.com.ar

Introducción: *Strongyloides stercoralis* es un nematodo que habita en el intestino delgado humano y causa la enfermedad conocida como strongiloidiasis. Históricamente, las geohelmintiasis se han considerado endémicas en las zonas del norte de Argentina. En la

provincia de Salta se destaca la alta prevalencia de *S. stercoralis*. Sin embargo, la baja sensibilidad en el diagnóstico parasitológico, donde los individuos sintomáticos o asintomáticos tienen resultados falsos negativos conduce a que las prevalencias e incidencias sean subestimadas. La localidad salteña de La Unión ubicada en el norte de la provincia cuenta con una población de 8100 personas donde el 23% son aborígenes de la etnia Wichí. En un estudio preliminar, en el año 2014 en dicha localidad se determinó una seroprevalencia de *S. stercoralis* del 12% utilizando el antígeno recombinante NIE mediante la técnica de ELISA. Objetivo: Conocer la seroprevalencia de *S. stercoralis* en la localidad de La Unión ubicada en el norte de la provincia de Salta. Materiales y métodos: En el marco de la Campaña Sanitaria ADESAR Chaco Salteño 2016, se tomaron 90 muestras de materia fecal y sangre para separar suero para serología, de niños y adultos de parajes pertenecientes a la localidad de La Unión, entre otras, en el norte de la provincia de Salta. Todas las muestras analizadas por microscopía directa (método concentrado) fueron negativas para *S. stercoralis*. Se evaluaron 90 sueros de pacientes con la técnica ELISA utilizando el antígeno recombinante NIE de *S. stercoralis*. La concentración de los sueros se midió en unidades/ml mediante la interpolación de los valores de densidad óptica con una curva estándar realizada con un suero control positivo. La línea de corte se estableció mediante curvas ROC utilizando sueros controles positivos y controles negativos. Resultados: El análisis serológico de las muestras del año 2016 reveló una prevalencia en la localidad de La Unión del 13% (12/90), no hubo diferencias significativas con la prevalencia reportada en el año 2014. Conclusión: Las pruebas serológicas presentan la ventaja de no depender de la excreción de larvas, por lo cual presentan una sensibilidad mayor a las pruebas coproparasitológicas. La persistencia de la prevalencia indica la necesidad de un control de la geohelmintiasis en la zona mediante administración de drogas anti-helmíntica para reducir los niveles de infección y la morbilidad; así como también promoción y prevención de esta parasitosis.

116 - BROTES EPIDEMICOS DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA (LTA) EN LA PROVINCIA DE CORRIENTES

María J.F. Rea, Edgardo C. Borda, Mirta L. Mierez, Adriana I. Fleitas

CENTRO NACIONAL DE PARASITOLOGIA Y ENFERMEDADES TROPICALES (CENPETROP).

E-mail: cenpetrop@hotmail.com

A partir de 1987, por trabajos realizados por el CENPETROP se comprobó la presencia de leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) y sus vectores en la ciudad de Corrientes. Desde entonces se presentaron varios brotes epidémicos en esta provincia. En 1988 una familia se infectó con el parásito en el Departamento de Empedrado (madre de 30 años, hijas de 2,3 y 5 años). En 1990 en Paso de la Patria un brote familiar afectó a tres niñas de 3, 12 y 13 años. En el Departamento de Bella Vista: entre 1992 y 1993 hubieron brotes donde se diagnosticó por primera vez en la mucosa, en 1998 en la zona rural, cinco pacientes integrantes de dos familias, y en junio de 2003 otro en la zona suburbana en el barrio La Florida en 23 personas incluida una lactante de ocho meses y una nena de dos años. Se demostró la etiología de las úlceras como *Leishmania braziliensis* y se identificaron los vectores. En este trabajo se presentan los resultados de brotes de LTA en la provincia de Corrientes durante el año 2015. Se diagnosticaron 12 personas (ocho varones y cuatro mujeres) con lesiones en la región cutánea y una de naturaleza cutáneo-mucosa, que tenían desde uno mes a cinco meses de evolución. Cuatro eran niños entre 3 y 11 años y ocho adultos de 20 a 75 años. Siete provenían de la localidad de Riachuelo (Dpto.Capital), uno de Empedrado, uno de Bella Vista y cuatro de la ciudad de Corrientes. Todos fueron diagnosticados con el test de Montenegro (40 N/ml *Leishmania amazonensis*, Brasil). En ocho se observaron amastigotes en frotis por aposición teñidos con Giemsa. Las localizaciones múltiples se encontraron en cuatro casos y en uno de ellos estuvo involucrado el rostro (nariz y mejillas) Las partes del cuerpo más afectadas por las lesiones fueron las extremidades inferiores, las superiores y la espalda. Las localizaciones múltiples se

encontraron en cuatro casos y en uno de ellos estuvo involucrado el rostro. También se realizó la captura de flebótomos en el domicilio y peridomicilio de los enfermos colocando papeles embebidos en aceite de ricino, colectándose *Lutzomyia*. Estas localidades son zonas históricamente endémicas y presentan condiciones que favorecen la transmisión: las viviendas tienen cercanía con el monte, las condiciones estructurales de las casas benefician el ingreso de los insectos transmisores que pican a las personas tanto dentro como alrededor de las casas. El abuelo de uno de los pacientes de Riachuelo ya fue diagnosticado de LTA en 1987.

117 - TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE FLEBÓTOMOS DE UN ÁREA ENDÉMICA DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN LA PROVINCIA DE SALTA, MEDIANTE PCR-RFLP DEL GEN ARNR 18S

María C Almazán⁽¹⁾, Griselda N Copa⁽²⁾, Inés R López Quiroga⁽³⁾, Carlos L Hoyos⁽⁴⁾, José F Gil⁽⁵⁾, Jorge D Marco⁽⁶⁾, Julio R Nasser⁽⁷⁾, Paola A Barroso⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾Instituto de Investigación de Enfermedades Tropicales. ⁽³⁾Universidad Nacional de Salta. ⁽⁵⁾Instituto de Investigaciones en Energía no Convencional. ⁽⁶⁾⁽⁸⁾Instituto de Patología Experimental.

E-mail: cristina.almazan90@gmail.com

Los vectores de la leishmaniasis son tradicionalmente identificados mediante claves dicotómicas, analizando estructuras de valor taxonómico como el cibario y la espermateca para hembras. Las principales desventajas radican en que dichas estructuras pueden ser fácilmente dañadas por mala preservación del material o durante la manipulación de los ejemplares para su montaje. Esta técnica es, además, laboriosa y demandante ya que el procesamiento de insectos implica etapas de deshidratación y clarificación. Dado que las técnicas moleculares no requieren tales procesos y tampoco se ven afectadas por daños de estructuras, tienen gran potencial para la identificación de flebótomos. El gen 18S tiene regiones conservadas que, por su alto número de copias, constituyen blancos óptimos para PCR y tipificación. El objetivo del trabajo fue estandarizar las técnicas de PCR y RFLP para la identificación

de flebotomos capturados en el Departamento de Orán, Salta. Se usaron 8 trampas de luz tipo CDC desde las 7 pm hasta 8 am del día siguiente. Las hembras capturadas se colocaron en alcohol 70% para su preservación. Se les extrajo el ADN con un buffer de lisis. Mediante PCR se amplificó parte del gen 18S con los primers 5'TGCCAGTAGTTATATGCTTG 3' y 5'CACCTACGGAAACCTTGTTAC 3'. Las restricciones se hicieron con la enzima Afa I, a 25° durante 2 horas. Inicialmente, algunas hembras fueron disectadas para ser identificadas mediante la observación de cibario y espermateca a través de la Guía de Young & Duncan, 1994. Luego de identificar 10 hembras de *Nyssomyia neivai*, 10 de *Mygonemyia migonei* y 10 de complejo *sallei-cortezii*, se les hizo PCR-RFLP para confirmar la especificidad de los patrones de bandas generados por cada ejemplar analizado. Posteriormente, 50 hembras fueron analizadas mediante PCR-RFLP. El 64% fue *Ny. neivai*, el 26% complejo *sallei-cortezii* y el restante 10% fue *Mg. migonei*. El método propuesto resultó ser rápido y eficiente para el procesamiento de las muestras y los patrones obtenidos fueron especie-específicos. Asimismo, permite plantear la utilidad potencial, para la incriminación de vectores mediante búsqueda de infección natural con primers específicos para *Leishmania*. Además, este método permitiría la determinación de preferencias alimentarias de flebotomos y de esta forma focalizar las intervenciones, esfuerzos y recursos para prevenir la dispersión del parásito y, consecuentemente, mejorar la planificación de la vigilancia entomológica.

118 - DIVERSIDAD Y FORMAS INMADURAS DE FLEBÓTOMOS DEL PARAJE RURAL EL CEDRAL, ÁREA ENDÉMICA PARA LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN EL NORTE DE SALTA

Griselda Noemi Copa⁽¹⁾, *Cristina Almazán*⁽²⁾, *Carlos Hoyos*⁽³⁾, *Silvana Cajal*⁽⁴⁾, *Marisa Juárez*⁽⁵⁾, *Alejandro Krolewiecki*⁽⁶⁾, *Reynaldo Caro*⁽⁷⁾, *María Canabire*⁽⁸⁾, *Dana Villazón*⁽⁹⁾, *Andres Escalada*⁽¹⁰⁾, *Valeria Tejerina*⁽¹¹⁾, *Julio Nasser*⁽¹²⁾, *Diego Marco*⁽¹³⁾, *José Fernando Gil*

⁽¹⁴⁾⁽¹⁾⁽²⁾ *Instituto de Investigaciones de Enfermedades Tropicales CONICET.* ⁽³⁾⁽⁶⁾ *Instituto*

de Investigaciones de Enfermedades Tropicales CONICET. ⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ *Instituto de Investigaciones de Enfermedades Tropicales.* ⁽¹³⁾ *Instituto de Patología Experimental CONICET.* ⁽¹⁴⁾ *Instituto de Investigaciones en Energías No Convencionales CONICET UNSa .E-mail: noemicopa@conicet.gov.ar*

La Leishmaniasis tegumentaria (LT) es endémica en el norte de Argentina. Es provocada por protozoos del género *Leishmania*, y transmitidos a los seres humanos por dípteros de la subfamilia Phlebotominae. El objetivo del trabajo fue describir los casos de LT ocurridos entre 08-2015 y 06-2016, la presencia, diversidad y distribución de flebotomos adultos y de formas inmaduras en la vegetación colindante al paraje El Cedral (PEC). El PEC es una zona rural de 139 habitantes de Orán, que limita hacia el oeste con vegetación silvestre. Los casos fueron diagnosticados mediante frotis en el IIET. El relevamiento de flebotomos adultos se llevó a cabo, mediante trampas CDC de 19:00 a 7:00 hs en diciembre de 2015, en 19 sitios distribuidos a partir del borde hacia el interior de la vegetación distanciados entre sí a 30 m aproximadamente. En 10 sitios se recogieron 250 gr/sitio de tierra que fue incubada a 24 ±2 C° y analizada mediante observación directa a través de microscopía. Los datos se analizaron mediante los test de χ^2 y la correlación de Pearson usando el software Infostat. Se diagnosticaron 10 casos de LT en PEC (Prevalencia = 7%), de los cuales el 57% corresponde a niños (Media=11años) y mujeres. Se capturaron un total de 436 flebotomos: *Nyssomyia neivai* (83%), *Mygonemyia migonei* (7%), complejo *cortezii* (5%), *Evandromyia sallesi* (1%) y *Psathyromyia shannoni* (0,5%). El 67% de las hembras se encontraban en estado de gravidez. La abundancia total mostro correlación negativa con la distancia al borde del monte ($r=-0,63$; $p<0,0001$). *Ny. neivai*, estuvo presente en todos los sitios y su abundancia aumentó significativamente hacia el borde de la vegetación ($r=-0,64$; $p<0,0034$). Dos larvas y dos pupas fueron encontradas en uno de los sitios muestreados. Las tres especies de flebotomos mayoritariamente encontradas en este trabajo están sospechadas de transmitir LT. Debido a que todo el paraje cuenta con parches de vegetación distribuidos heterogéneamente en su interior que pueden servir de refugio para los flebotomos y

que la mayoría de los casos son niños, existe la probabilidad de que ocurra transmisión domiciliar y/o peridomiciliar. Esto plantea la necesidad de actualizar y desarrollar actividades de prevención en los parajes rurales de Orán considerando la posibilidad de un mayor riesgo de transmisión en los bordes de vegetación. Finalmente, este es el primer reporte de formas inmaduras de flebotomos, para una región de selva pedemontana de las Yungas.

INMUNOLOGIA Y PATOGENIA

119 - RESPUESTA GÉNICA DIFERENCIAL DEL MICROAMBIENTE PLACENTARIO EN MODELO MURINO DE INFECCIÓN CRÓNICA CON DOS CEPAS DE *Trypanosoma cruzi*

Natalia A Juiz

INGEBI-CONICET.

E-mail: nataliaajuiz@gmail.com

La transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi*, el agente causante de la enfermedad de Chagas, sigue siendo un problema de salud pública de impacto global tanto en las zonas endémicas, donde han sido controladas la transmisión vectorial y transfusional, como en países no endémicos debido a los movimientos migratorios. Poco se sabe acerca de cómo la presencia del parásito y la variabilidad genética del mismo afectan la capacidad de la placenta para proteger al feto. El presente estudio explora, por primera vez, la persistencia del parásito y la expresión génica generada en placentas de ratones C57BL/6J como respuesta a la infección con dos cepas de *T. cruzi*, K98, un clon no letal miotrópico AC-I (TCI), y VD (TCVI), aislada de un paciente con infección congénita. Con este objetivo, se llevaron a cabo análisis de genómica funcional y posteriormente, se evaluaron las redes biológicas involucradas. El análisis de las redes mediante la implementación del algoritmo de GeneMANIA de aquellos genes expresados diferencialmente mostró que la vía del gránulo secretorio se encuentra regulada negativamente en ambos grupos infectados, mientras que la respuesta inmune innata y la respuesta al interferón-gamma se hallan reguladas positivamente en la infección

por VD, pero no en K98. Al aplicar otro método, el algoritmo de GSEA, el cual detecta pequeños cambios en conjuntos de genes predeterminados, se encontró que los procesos metabólicos, la transcripción y el transporte macromolecular están regulados de forma negativa en las placentas infectadas, mientras que algunas vías relacionadas con la cascada de señalización presentan una regulación opuesta entre ambos grupos: sobrerrepresentadas en VD y negativamente reguladas en K98. Mediante la cuantificación de ADN satélite de *T. cruzi*, hemos encontrado una carga parasitaria más elevada en las placentas de los animales infectados con la cepa VD. Estos resultados coinciden con las determinaciones obtenidas por RT-qPCR de ARN 18S, indicando la presencia de parásitos vivos y un mayor tropismo placentario por parte de esta cepa. Nuestros hallazgos sugieren que el microambiente placentario ejerce una fuerte respuesta inmune en detrimento del metabolismo celular, y esto estaría modulado por la cepa infectante. Este trabajo constituye una importante contribución para la mejor comprensión de los mecanismos que causan la infección congénita de *T. cruzi*,

120 - MEGACOLON CHAGASICO: CASUISTICA Y ASOCIACION CON AUTOANTICUERPOS β -ADRENERGICOS

Jose I Valenzuela⁽¹⁾, Paola Noroña⁽²⁾, Maximiliano Castro⁽³⁾, Miguel Vicco⁽⁴⁾, Luz M Rodeles⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral. ⁽⁵⁾2 Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral

E-mail: luzrodeles@gmail.com

Introducción: Las manifestaciones digestivas de la enfermedad de Chagas crónica (ECC) son descritas con poca frecuencia (<3-5%) en nuestro medio, desconociéndose su prevalencia real. La destrucción de los plexos autonómicos por acción parasitaria y respuesta T-citotóxica son los principales mecanismos involucrados. Así mismo, se han descrito autoanticuerpos que mediante mimetismo molecular entre proteínas parasitarias y los receptores adrenérgicos,

podrían contribuir a su fisiopatogenia. Nos propusimos evaluar la casuística de megacolon chagásico (MGC) en una serie de pacientes ambulatorios y correlacionar estos hallazgos con la presencia de anticuerpos adrenérgicos. **Materiales y Métodos:** Estudio observacional, transversal. Se incluyeron adultos con ECC desde 01/02/2015 a 01/02/2016 a los que se realizó anamnesis y examen físico, solicitándose otros estudios complementarios acorde a clínica (radiografía de abdomen, videoendoscopia digestiva baja). Los anticuerpos dirigidos contra los receptores $\beta 1$ y $\beta 2$ adrenérgicos se determinaron por ELISA indirecto, expresándose sus resultados como IDO (índice de densidad óptica) del valor promedio de los controles negativos +2 DS. **Resultados:** Se incluyeron 64 pacientes con ECC de 46 ± 11 años, siendo 42 (66%) de sexo femenino. 14 (21%) refirieron sufrir constipación crónica, diagnosticándose MGC en 8 (12%) de ellos por radiografía de abdomen y videoendoscopias digestivas bajas negativas para otras causas de obstrucción. No se encontró diferencias según el sexo ni referencia a otros síntomas como disfagia. Respecto a los anticuerpos estudiados, se encontraron mayores niveles anti- $\beta 2$ en los pacientes con MGC [1,37 (1,2-1,92) vs 1,05 (0,87-1,25) $p=0,009$]. Concordantemente, para el diagnóstico de MGC, dichos anticuerpos presentaron un área bajo la curva de 0,798 ($p=0,009$), con sensibilidad de 87% y especificidad de 73% con un valor de IDO anti- $\beta 2$ de 1,19. **Conclusión:** En nuestra muestra hallamos una casuística de 12% de megacolon atribuible a ECC a lo largo de un año, lo cual plantea la posibilidad de subregistro a nivel general y escasa exploración diagnóstica en pacientes sintomáticos. Por otra parte, su presencia se relacionó a mayores niveles de anticuerpos contra el receptor $\beta 2$ adrenérgico, hallazgo que podría asociarse a que su activación favorecería la disminución del peristaltismo y el tono del tubo digestivo. Es necesario continuar estudios para profundizar estos mecanismos y su potencial como predictor de MGC.

121 - ALTERACIONES METABÓLICAS EN ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA: PERFIL DE INSULINORRESISTENCIA Y AUTOANTICUERPOS $\beta 2$ ADRENÉRGICOS

Luz M Rodeles⁽¹⁾, Luz M Peverengo⁽²⁾, Estefanía Prochetto⁽³⁾, Miguel Vicco⁽⁴⁾, Evelyn Caceres⁽⁵⁾, Maximiliano Castro⁽⁶⁾, Jose I Valenzuela⁽⁷⁾, Iván Marcipar⁽⁸⁾, Pablo Arias⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁸⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica.
⁽⁴⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral. ⁽⁵⁾Laboratorio Central del Hospital "J. B. Iturraspe", Santa Fe.
⁽⁹⁾Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

E-mail: luzrodeles@gmail.com

Introducción: La enfermedad de Chagas crónica (ECC) se ha asociado a mayor prevalencia de obesidad y diabetes. Como mecanismo, se ha demostrado aumento de citoquinas proinflamatorias. Sin embargo, la respuesta inmune a *T.cruzi* además, produce autoanticuerpos dirigidos contra el receptor $\beta 2$ adrenérgico (anti- $\beta 2$ AR) que podrían contribuir al desarrollo de dichas alteraciones. Como objetivo, nos propusimos evaluar la relación entre el perfil metabólico y los niveles de anti- $\beta 2$ AR en pacientes con ECC, en comparación con un grupo control. **Materiales y métodos:** Estudio observacional, transversal, de inclusión prospectiva. Se estudiaron prospectivamente 63 pacientes con ECC y 24 controles pareados por edad, sexo e IMC. Se excluyeron aquellos con diagnóstico previo de diabetes, otras endocrinopatías, IMC >30, tratamiento para Chagas o inmunosupresor. Se realizó tolerancia oral a la glucosa (PTOG) de 75g con muestras a los 0, 30 y 120 min determinándose glucosa e insulina plasmáticas. Los niveles de anti- $\beta 2$ AR en suero fueron medidos por ensayo inmunoenzimático. Se calcularon parámetros de insulinorresistencia (HOMA-IR), insulinosensibilidad (Matsuda) e insulínogénesis (índice insulínogénico). **Resultados:** Los pacientes con ECC presentaron mayor índice HOMA-IR [2.78 (1.61-4.38) vs 1.65 (1.33-2.18); $p=0.028$] en comparación a los controles, aunque con menor índice insulínogénico precoz [1.33 (0.645-2.34) vs 0.623 (0.362-1.24); $p=0.016$]. No hubo diferencias de edad, IMC o circunferencia de cintura entre grupos. Un 65% de los pacientes con ECC fueron positivos para anti- $\beta 2$ AR ($n=39$), observándose mayor HOMA-IR en este grupo que en aquellos sin anticuerpos [3.82 (1.61- 5.96) vs.1.81 (1.51-

3.97); $p=0.030$). A su vez, presentaron menor índice insulinogénico a los 120 min [0.434 (0.171-1.38) vs 1.99 (0.872-15.4); $p=0.001$], correlacionándose negativamente sus títulos con el índice de Matsuda ($Rho=0.352$; $p=0.042$) y el índice de disposición periférica de la insulina ($Rho=-0.423$; $p=0.008$). Conclusiones: En nuestra muestra, los pacientes con mayores niveles de anti- $\beta 2AR$ presentaron un perfil insulinoresistente con menor disposición periférica de insulina. Esto podría asociarse a un posible deterioro funcional de las células β secundario a un aumento sostenido de la producción hepática de glucosa. Se continuarán estudios clínicos y experimentales para precisar la relevancia patogénica de los anticuerpos anti- $\beta 2AR$ en las alteraciones metabólicas detectadas.

122 - ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE GENERADA POR UNA VACUNA BASADA EN UN FRAGMENTO DE LA TRANS-SIALIDASA DE *Trypanosoma cruzi* FORMULADA CON CAJAS LIPÍDICAS

Estefania Prochetto, Carolina Roldán, Daiana Bertona, Iván Bontempi, Miguel Vicco, Luz Rodeles, Luz Peverengo, Alexia Poato, Iván Marcipar, Gabriel Cabrera

Laboratorio de Tecnología Inmunológica- FBCB, UNL.

E-mail: estefiprochetto@hotmail.com

Previamente hemos descripto la protección brindada por un fragmento de la proteína trans-sialidasa (TSf) de *T. cruzi* al ser formulada con un adyuvante desarrollado por nuestro grupo basado en cajas lipídicas y QuilA (ISPA). Los ratones inmunizados mostraron mayores niveles de anticuerpos IgG específicos contra la TSf, mayor sobrevivencia que el grupo control frente a un desafío con *T. cruzi* y menor parasitemia. El objetivo de este trabajo fue ahondar en las características de la respuesta inmune generada por la inmunización con TSf-ISPA y luego del desafío con *T. cruzi*,

Se inmunizaron ratones hembras BALB/c cada 15 días con 10 μ g de TSf más 5 μ g de adyuvante ISPA en un total de tres dosis. Como control se usó PBS. Una semana después de la última inmunización se evaluó la DTH (respuesta de

hipersensibilidad retardada) mediante la inoculación de 5 μ g de TSf pura en la almohadilla plantar. El grupo vacunado mostró un significativo aumento del grosor de la almohadilla plantar. (delta mm \pm DS, n=10 por grupo) PBS: 0,085 \pm 0,09; TSf: 0,56 \pm 0,25, $p<0,05$.

El plasma de los ratones inmunizados se cocultivó con tripanosomas in vitro para evaluar la capacidad tripanolítica de los anticuerpos generados. El recuento de parásitos en cámara de Neubauer mostró una disminución de parásitos cuando se usó el plasma de los ratones inmunizados (TSf+) con respecto a los no inmunizados (control PBS) (n parásitos \pm DS n=5 por grupo); TSf: 8,5 \pm 1,2; Control 11,5 \pm 0,8, $p<0,05$.

Quince días después de la última vacunación, los ratones fueron desafiados con mil tripomastigotes de la cepa Tulahuen. A los 21 días post infección se observó, por citometría de flujo, un aumento de células CD4 Treg en el bazo de los ratones infectados y vacunados (Cz+TSf+) en comparación de los infectados no vacunados (cz+) y los no infectados (cz-). (Número absoluto $\times 10^6 \pm$ DS, n=4 por grupo) Cz+: 2,72 \pm 0,22; Cz+TSf+: 3,8 \pm 0,29; Cz-: 2,8 \pm 0,33, $p<0,05$. Todos los ensayos se realizaron 2 veces con resultados similares.

En conjunto, estos resultados muestran que la protección brindada por la vacunación con TSf-ISPA contra *T. cruzi* correlaciona con alteraciones en parámetros inmunológicos relacionados tanto con la respuesta efectora, DTH y ensayo tripanolítico, como con cambios en la respuesta regulatoria, células CD4 Tregs.

123 - PREDICCIÓN BIOINFORMÁTICA Y VALIDACIÓN DE NUEVOS EPITOPES DE T. CRUZI RECONOCIDOS POR LINFOCITOS T DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA

Gonzalo Acevedo⁽¹⁾, Andrea Ziblat⁽²⁾, Marisa Fernandez⁽³⁾, Yolanda Hernandez⁽⁴⁾, Morten Nielsen⁽⁵⁾, Karina Gómez⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽⁶⁾INGEBI-CONICET. ⁽²⁾IBYME-CONICET. ⁽³⁾⁽⁴⁾INP-ANLIS. ⁽⁵⁾IIB-INTECH-UNSAM.

E-mail: gacevedo@dna.uba.ar

La respuesta inmune celular cumple un rol central en el control de la infección por *Trypanosoma cruzi*. El estudio del repertorio de linfocitos T en pacientes con enfermedad de Chagas crónica es de interés fundamental para el desarrollo de vacunas profilácticas y terapéuticas. El objetivo de este trabajo fue la identificación de antígenos de *T. cruzi* por examinación directa de la memoria inmunológica de pacientes con enfermedad de Chagas crónica, empleando una aproximación experimental que combina métodos predictivos in silico y su validación in vitro. A partir de las secuencias de 53 proteínas de *T. cruzi* anotadas en la base de datos de inmunopeptidos (IEDB) se obtuvieron in silico todos los decapeptidos posibles. De entre estos, se seleccionaron aquellos de secuencia conservada entre las cepas CL Brenner y Sylvio, y se descartaron aquellos con solapamiento mayor a 9 aminoácidos con secuencias de *H. sapiens*. Los restantes fueron calificados mediante algoritmos predictivos de afinidad de unión con las moléculas de CMH de las familias HLA-A y -B prevalentes en Latinoamérica (MHCPan) y las de HLA-DR más frecuentes (MHCPanII). Adicionalmente, se evaluó el grado de promiscuidad de unión a las distintas formas polimórficas de HLA (PopCover). Los 50 péptidos con mejor puntaje fueron sintetizados y aleatorizados en 5 mezclas de 10 péptidos cada una, y se utilizaron para desafiar, mediante ELISPOT para interferón- γ , células mononucleares de sangre periférica de pacientes con Chagas crónico (15 asintomáticos y 10 con cardiopatía chagásica crónica). Cuatro individuos no infectados con el parásito fueron incluidos como grupo control. Además de las mezclas de péptidos, se usaron como estímulos lisado de *T. cruzi* como control positivo de la respuesta específica y PHA como control positivo inespecífico. Los péptidos de las mezclas reactivas fueron evaluados en forma de péptidos individuales para determinar los potenciales epitopes inmunogénicos. Se detectaron al menos 4 péptidos capaces de inducir respuesta por secreción de interferón- γ en células de pacientes, 2 de los cuales representarían epitopes completamente novedosos. Se están realizando ensayos para caracterizar en detalle el perfil fenotípico y funcional de la(s) población(es) celulares responsables de la producción de esta citoquina.

124 - RESPUESTA LINFOPROLIFERATIVA DE ESPLENOCITOS DE RATONES BALB/C NAIVE FRENTE AL ANTÍGENO TC13TUL DE T. CRUZI : FENOTIPO Y FUNCIONALIDAD DE LAS CÉLULAS

Andrea C Bruballa, Laura M Tasso, Patricia A Garavaglia, M Cecilia Albareda, Gabriela A García
Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatale Chaben"- ANLIS "Dr. Carlos G. Malbran".

E-mail: lauratasso79@yahoo.com.ar

La infección por *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, se caracteriza por una expansión del bazo debido a una activación policlonal de linfocitos B y T acompañada de un proceso de apoptosis y desregulación de la producción de citoquinas. Se han identificado varios factores solubles de *T. cruzi* con capacidad de afectar estos procesos y de modular la respuesta inmune, entre ellos, la enzima trans-sialidasa (TcTS), miembro del grupo I de la superfamilia de las trans-sialidasas. En los últimos años, nuestro grupo de trabajo estudió al antígeno Tc13Tul, perteneciente al grupo IV de la superfamilia TS, observando un efecto proliferativo sobre esplenocitos de ratones BALB/c naive, acompañado por un aumento de las células en apoptosis temprana. Estos datos sugieren la participación de Tc13Tul en la respuesta inmune innata contra el parásito. Para caracterizar las poblaciones linfocitarias involucradas en la proliferación, los esplenocitos teñidos con CFSE y estimulados durante 72 hs con el antígeno recombinante MBP-Tc13Tul (o MBP como control) se marcaron con anticuerpos fluorescentes específicos contra las moléculas de superficie CD19 y CD3 a fin de identificar linfocitos B y T, respectivamente, por citometría de flujo. El antígeno Tc13Tul indujo un aumento significativo en el porcentaje de células en división en la población de linfocitos CD19+ en comparación con la proteína control MBP ($12,9 \pm 0,2828$ % con MBP-Tc13Tul vs $1,505 \pm 0,3465$ % con MBP; $p < 0,0001$). Por otro lado, el porcentaje de células CD3+ en división fue similar en ambos casos ($13,60 \pm 2,404$ % con MBP-Tc13Tul vs

19,10 ± 0,1 % con MBP). El efecto proliferativo de los linfocitos B inducido por Tc13Tul se inhibió por el agente inmunosupresor ciclosporina A, sugiriendo que podría ser un efecto T-dependiente. La estimulación de los esplenocitos *naive* con Tc13Tul produjo un aumento significativo de IgG en los sobrenadantes comparado con el control (16,26 ± 5,213 µg/ml con MBP-Tc13Tul vs. 3,57 ± 1,848 µg/ml con MBP; p<0,05). También evaluamos la producción de IL17 en los sobrenadantes de los esplenocitos, dado que está documentado que la TcTs induce producción de IL-17 por linfocitos B activados; sin embargo, no detectamos la secreción de esta citoquina en las células estimuladas con Tc13Tul. Estos resultados indican que el antígeno Tc13Tul actuaría favoreciendo la evasión del sistema inmune a través de la activación policlonal de células B y secreción de IgG inespecífica.

125 - LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DIETARIOS DETERMINA EL GRADO DE ESPLENOMEGALIA EN RATONES CON INFECCIÓN SUBPATENTE POR *Trypanosoma cruzi*

Marina A Beladelli, María J Moreira Espinoza, Garrett M Gardner, Cintia M Díaz Luján, María F Triquell, Luciana Mezzano, Evangelina Benizio, Ricardo E Fretes, Mariana Piegari

Cátedra de Biología Celular, Histología y Embriología. Universidad Nacional de Córdoba- Instituto de Biología Celular- INICSA.

E-mail: marianapiegar@hotmail.com

La esplenomegalia es síntoma temprano común frente a *T.cruzi*. En ratones infectados el bazo fue el órgano más comprometido y su remoción asociada a aumento de mortalidad. El componente inflamatorio, dependiente en parte de lípidos dietarios, podría jugar un rol en el incremento del peso esplénico y la defensa temprana. Objetivo: determinar en ratones con 15 días de infección por *T. cruzi* el efecto de diferentes aportes lipídicos dietarios en presencia y grado de esplenomegalia e infiltrados inflamatorios. Ratones hembra C3H, alimentadas 3 meses con dietas (D) con 10% de aceite de Maíz-control, Oliva-fuente ácidos grasos ω9, Chia-ácidos grasos ω3 y Coco-ácidos grasos saturados; y D con 25% aceite de Coco. Se

infectaron con 3000 trypomastigotes (Tulahuen), vía intraperitoneal. Infectadas(n=36) y sin infectar(n=38). Sacrificio: 15 días infección. Se evaluó parasitemia, ADN parasitario (PCR músculo esquelético), esplenomegalia (medida con: Peso esplénico. Índice de peso esplénico en peso animal total [IPE]. Y porcentaje de aumento de peso esplénico), grado de esplenomegalia y microscopía óptica de bazo, hígado, músculo esquelético y cardíaco. Estadística prueba T. Se observó infección subpatente con parasitemia negativa y PCR positivo. Animales sin infección D Coco25% presentaron IPE mayor que Maíz (p=0,0304). Animales infectados mostraron esplenomegalia (peso esplénico e IPE) vs sin infectar (p<0,01). Porcentaje de variación de IPE significativamente menor en animales Chía, Coco10% y Coco25% vs Maíz. Animales D Maíz con grados de esplenomegalia significativamente mayores que Chía, Coco10% y Coco25%. La esplenomegalia, implicó aumento cualitativo proporcional de pulpa blanca. Animales infectados presentaron incipientes focos inflamatorios mononucleares en los órganos estudiados, sin diferencias dietarias. A 15 días de infección por *T.cruzi* se observó esplenomegalia marcada y presencia de infiltrados mononucleares en órganos aún en ausencia de parasitemia. Los lípidos dietarios modificaron el grado de esplenomegalia, quizás por su participación en procesos inflamatorios. Es preciso profundizar el estudio de los cambios histológicos en bazo para detectar si las diferencias cualitativas se corresponden con cuantitativas y su correlacionan con dietas. Así como ahondar en la investigación para relacionar los cambios esplénicos con posibles diferencias en progresión de la enfermedad o transmisión de chagas congénito quizá indicativos de modos de intervención temprana.

126 - EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA CELULAR Y HUMORAL FRENTE AL TRATAMIENTO COMPLETO E INCOMPLETO CON BENZNIDAZOL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICO

Castro Eiro Melisa D.⁽¹⁾, Alvarez MG⁽²⁾, Viotti R⁽³⁾, Cooley G⁽⁴⁾, Bertocchi G⁽⁵⁾, Lococo B⁽⁶⁾, Albareda MC⁽⁷⁾, César G⁽⁸⁾, Tarleton RL⁽⁹⁾, Laucella SA⁽¹⁰⁾

⁽¹⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾ *Instituto Nacional de Parasitología “Dr. F. Chaben.* ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾ *Hospital Interzonal de Agudos Eva Perón, Buenos Aires, Argentina.* ⁽⁴⁾⁽⁹⁾ *3Center for Tropical and Emerging Global Diseases, University of Georgia, Athens, GA, USA.*

E-mail: melisa_dce@yahoo.com.ar

Una de las principales limitaciones en el tratamiento de la infección crónica con *T. cruzi* es la aparición de efectos adversos, con una tasa de suspensión aproximada de entre el 17 y 30 % en pacientes tratados con benznidazol. Como pudimos ver previamente, algunos pacientes con esquema incompleto de tratamiento con esta droga, debido a la aparición de efectos adversos, pueden alcanzar la seronegatividad. Se ha mostrado además que un porcentaje de ratones que reciben esquemas acortados de tratamiento alcanzan la cura parasitológica. Sin embargo, los factores que determinan la efectividad del tratamiento en esquemas cortos son aún desconocidos. El objetivo de este trabajo es comparar la evolución de la respuesta celular y humoral en pacientes con Chagas crónico que recibieron el tratamiento completo o incompleto con benznidazol. Se incorporaron 70 pacientes adultos, veintitrés de ellos recibieron tratamiento incompleto con benznidazol debido a la aparición de efectos adversos, con una media de tratamiento de 10 días. El efecto adverso más común fue la aparición de exantema maculopapular. La presencia de anticuerpos específicos para *T. cruzi* fue evaluada por los tests de serología convencional, tanto para los pacientes con esquema completo e incompleto de tratamiento con benznidazol y que fueron seguidos por al menos 24 meses. Los anticuerpos específicos para *T. cruzi* disminuyeron significativamente en pacientes con tratamiento incompleto pero la disminución fue más lenta que la observada luego de un esquema completo. La seroconversión a valores negativos de 2/3 o 3/3 pruebas en pacientes con esquema incompleto de tratamiento fue registrada en 3 de 23 pacientes en un rango de seguimiento de 36 a 120 meses luego del tratamiento. La cantidad de linfocitos T productores de IFN- γ medida por ensayos de ELISPOT disminuyeron significativamente tanto en pacientes con tratamiento incompleto como con tratamiento completo. Estos hallazgos confirman y expanden nuestros estudios previos mostrando que ciertos indicadores potenciales de

cura pueden observarse en pacientes que reciben esquemas abreviados de tratamiento con benznidazol. Sin embargo, es necesario un mayor tiempo de seguimiento para encontrar cambios significativos en la respuesta humoral específica contra el parásito.

127 - INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi*: ROL DE LAS CITOCINAS PRO-INFLAMATORIAS EN LA SÍNTESIS DE ESTEROIDES ADRENALES EN UN MODELO DE INFECCIÓN EXPERIMENTAL

Eduardo Roggero⁽¹⁾, Esdras da Silva Oliveira Barbosa⁽²⁾, Florencia Gonzales⁽³⁾, Oscar Bottasso⁽⁴⁾, Ana R Pérez⁽⁵⁾, Silvina R Villar⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽⁶⁾ *CAECIHS, Universidad Abierta Interamericana.* ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ *Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER-CONICET-UNR).*

E-mail: villar@idicer-conicet.gob.ar

Las citocinas son mediadores implicados en la comunicación inmuno-endócrina. TNF- α e IL-6 estimulan a nivel de hipotálamo e hipófisis a liberar la hormona adenocorticotrofina (ACTH), la que actúa sobre los receptores de ACTH (MC2R) en la corteza adrenal para inducir la secreción de glucocorticoides (GC). Durante décadas, las concentraciones elevadas de cortisol plasmático fueron atribuidas a la estimulación de la glándula adrenal mediada por ACTH. Actualmente se han postulado posibles vías ACTH-independiente que contribuyen al aumento de GC en situaciones de estrés agudo. En la glándula adrenal, las citocinas pro-inflamatorias podrían estar implicadas en una vía independiente de síntesis de GC señalizada por la proteína Epac2. Previamente observamos que la infección por *T. cruzi* en ratones induce un aumento de GC, los que se independizan de ACTH al día 17 post-infección (pi). Por este motivo, nuestro objetivo fue estudiar en nuestro modelo experimental el comportamiento de la secreción de ACTH y GC sistémicos y la expresión adrenal de MC2R y Epac2 a diferentes tiempos pi. Se utilizaron ratones C57BL/6 (n=5-6 grupo/día) infectados con 200 parásitos y sacrificados a los días 7, 14 y 17 pi (Tc7, Tc14 y Tc17). En paralelo se procesó un grupo control (Co). Por citometría de flujo se determinaron las citocinas séricas TNF- α , INF- γ e IL-6 y por ELISA

los niveles de GC y ACTH. A nivel adrenal se evaluó Epac2 por western blot y MC2R mediante inmunohistoquímica (ImageJ). * $p < 0,05$ vs Co; & $p < 0,05$ vs Tc14. En el grupo Tc, TNF- α , INF- γ e IL-6 aumentan respecto del grupo Co (* $p < 0,05$ en todos los casos). En los animales Tc, los GC aumentan progresivamente (GC $\mu\text{g/dL} = \text{Co}: 3.1 \pm 1.3; \text{Tc14}: 12.3 \pm 10.7^*; \text{Tc17}: 37.6 \pm 4.1^*, \&$). Los niveles de ACTH presenta un pico al día 11 pi, luego su concentración decae no mostrando diferencias entre Tc17 y Co (ACTH $\text{pg/mL} = \text{Co}: 32.5 \pm 3.6; \text{Tc14}: 46.2 \pm 5.9^*; \text{Tc17}: 22.8 \pm 4.7^*, \&$). La expresión de MC2R es máxima en Tc14 y disminuye en el grupo Tc17 sin alcanzar los niveles basales. La expresión de Epac2 en el grupo Tc aumenta en todos los tiempos respecto del grupo Co (p global $< 0,05$). Nuestros resultados sugieren que el incremento en los niveles de GC sistémicos podrían en parte estar mediados inicialmente en el tiempo por la clásica activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. Asimismo, la secreción tardía de GC (Tc17) se independiza de los niveles de ACTH, pudiendo ser mediada en parte por la vía que involucra a Epac2.

128 - EVALUACIÓN DE LAS HSP90 DE PLANTAS COMO ADYUVANTE DE ANTÍGENOS VACUNALES CONTRA TOXOPLASMA GONDII

Edwin F Sánchez López, Romina M Albarracín, Valeria Sander, Mariana G Corigliano, Marina Clemente

Laboratorio de Biotecnología Vegetal. IIB-INTECH, CONICET-UNSAM.

E-mail: esanchez@intech.gov.ar

Previamente, demostramos que las proteínas Hsp90 de plantas podrían incorporarse como adyuvantes en vacunas que requieran de una respuesta Th1 para conferir inmunidad. En este trabajo, evaluamos a las proteínas Hsp90 de plantas como carriers/adyuvantes del antígeno SAG1 de *Toxoplasma gondii* para la modulación de la respuesta inmune murina, en el modelo de toxoplasmosis. SAG1 es una proteína abundante en taquizoitos de *T. gondii* y altamente inmunogénica que contiene epítopes estructurales para células T y B bien caracterizados, que generan respuesta de tipo celular y humoral, respectivamente. La región que codifica para la proteína madura de SAG1

(SAG1m) y un péptido que va desde el aminoácido 221 al 322 (SAG1HC) conteniendo los epítopes T y B, se clonaron en marco con la proteína Hsp90.3 de *Nicotiana benthamiana* (NbHsp90.3). Luego, se purificaron las proteínas de fusión recombinantes expresadas en bacterias: NbHsp90.3–SAG1m y NbHsp90.3–SAG1HC, las cuales se usaron para inmunizar ratones C57BL/6. Como grupos control se utilizaron las proteínas SAG1m y NbHsp90.3 solas y la mezcla de ambas. Se evaluó la respuesta humoral y se observó que todos los grupos de ratones inmunizados con la proteína SAG1m mostraron una producción significativa de anticuerpos anti-SAG1 respecto a los grupos control (NbHsp90.3 y PBS). Interesantemente, se observaron diferencias en el perfil de los isotipos de inmunoglobulinas producidas en los ratones inmunizados con las distintas formulaciones. Mientras los grupos NbHsp90.3–SAG1m o NbHsp90.3–SAG1HC mostraron un perfil asociado a una respuesta tipo Th1; los ratones inmunizados con la mezcla de ambas proteínas mostraron un perfil compatible con una respuesta mixta Th1/Th2. Finalmente, la inmunización con la proteína SAG1m sola mostró un perfil asociado a una respuesta tipo Th2. Por otro lado, se realizó un ensayo de protección donde se observó que todas las formulaciones vacunales que combinaron el uso de la proteína NbHsp90.3 con el antígeno SAG1, ya sea como fusión o mezcla, indujeron una reducción de hasta el 44% en la formación de quistes de parásitos en cerebro. Por lo tanto, consideramos que el perfil diferencial en la producción de anticuerpos explicaría, en parte, la protección observada en los ratones inmunizados ya que una respuesta protectora efectiva contra *T. gondii* se correlaciona con una respuesta inmune tipo Th1, la cual estaría determinada por el uso de la proteína NbHsp90.3 como carrier/adyuvante.

129 - ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DE GALECTINA-8 DURANTE LA INFECCIÓN CON *Trypanosoma cruzi*

Adriano Bertelli⁽¹⁾, Pablo Ruiz Díaz⁽²⁾, Carla Pascuale⁽³⁾, Henan García Rivello⁽⁴⁾, Oscar Campetella⁽⁵⁾, Susana M Leguizaón⁽⁶⁾

(1)(2)(3)(5)(6) *Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Intech.* (4) *Servicio de Patología, Hospital Italiano, Buenos Aires.*

E-mail: abertelli@iibintech.com.ar

Las galectinas (Gals) son lectinas animales solubles que se caracterizan por poseer dominios de reconocimiento a carbohidratos (CRD) con afinidad por β -galactósidos. Las Gals son expresadas por células de órganos linfoides y por gran cantidad de otros tipos celulares. Las funciones mejores caracterizadas son a nivel extracelular, donde las Gals se unen a glicanos modulando así la fisiología celular tal como la adhesión. Además tanto a nivel extra como intracelular, actúan regulando la expresión de citoquinas, apoptosis, migración, inflamación, proliferación, etc. Se clasifican en base a su estructura en 3 grupos: prototipo; quimera, y tandem repeat. Las últimas poseen dos CDR unidos por un péptido linker (ej Galectina-8). Las diferentes isoformas de Gal-8, están definidas por la longitud del péptido linker. Gal-8 está ampliamente distribuida en diferentes tejidos y es secretada al medio extracelular actuando de modo autócrino o parácrino. No existen antecedentes de su participación durante la infección con *Trypanosoma cruzi*. La superficie del parásito está cubierta por mucinas relacionadas con eventos de invasión y evasión así como en procesos de adhesión y migración. Dado que las Gals están involucradas en estos procesos así como también en la modulación del sistema inmune, el objetivo de este trabajo fue analizar la participación de Gal-8 en la infección con *T. cruzi* en un modelo de infección crónica en ratones macho C57BL/6J WT y Gal-8 KO. Se evaluó producción de citoquinas y proliferación celular en ambos grupos infectados mediante cultivos de esplenocitos. Además, se realizó la fenotipificación de poblaciones B y T por citometría de flujo. Llamativamente los animales Gal-8KO infectados presentaron un mayor desarrollo de esplenomegalia. La ausencia de Gal-8 no afectó las poblaciones TCD4+ ni TCD8+ en contraste con las poblaciones B220+ y CD19+ que estaban significativamente disminuidas. Paralelamente observamos un aumento en la población CD138+ y la producción de IL-6 también se encontró incrementada. En este contexto, la proliferación de esplenocitos de Gal-8KO fue mayor respecto a los animales WT

infectados. Estos resultados están en concordancia con la evaluación histológica, en la que se observó un aumento de folículos secundarios con centros germinales enriquecidos en células plasmáticas. La ausencia de Gal-8 durante la infección crónica favorecería entonces un shift en el desarrollo B hacia células plasmáticas.

130 - 15-DEOXI-DELTA12,14 PROSTAGLANDINA J2 ATENÚA LA INJURIA HEPÁTICA ASOCIADA A LA INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi*

Federico Nicolás Penas, Ágata Cevey, Sofía Siffo, Gerardo A Mirkin, Nora B Goren

IMPaM-UBA, CONICET.

E-mail: federicopenas@hotmail.com

La etapa aguda de la infección con *Trypanosoma cruzi* (Tc), va acompañada por procesos inflamatorios en diversos órganos. La afectación visceral incluye al hígado, donde se observa un intenso parasitismo de las células de Kupffer y lesiones inflamatorias focales. El interés por la interacción entre Tc y el hígado, radica en el hecho de que este órgano controla el metabolismo de lípidos, hidratos de carbono y proteínas, y por consiguiente, la integridad de la salud del huésped. 15-deoxi-delta 12,14 prostaglandina J2 (15d), ligando natural del receptor PPAR γ que interviene en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, ha sido implicada en la regulación de la inflamación. Trabajos previos de nuestro grupo demuestran que 15d modula la respuesta inflamatoria cardíaca en ratones infectados con Tc, por mecanismos dependientes e independientes de PPAR γ . En este trabajo nos propusimos estudiar el papel de 15d sobre el restablecimiento de la función y reducción de la inflamación hepática en un modelo agudo de Chagas experimental. Ratones BALB/c fueron infectados con la cepa RA de Tc y tratados diariamente con 15d. Primero, determinamos que 15d no modifica la parasitemia, el parasitismo hepático, ni el peso de los ratones ($P > 0,05$). Además, este agonista no afecta los niveles de expresión de PPAR γ en el hígado de los ratones infectados (qPCR, $P > 0,05$). Estudios en cortes histológicos demostraron que 15d reduce la magnitud de los infiltrados inflamatorios y no modifica el número de nidos de amastigotes.

Además, 15d reduce la fibrosis hepática. El tratamiento reduce los niveles de expresión de TNF- α , IL-6 e IL1- β (qPCR, P<0,05), así como la expresión de NOS2 y MMP2 (Western blot (Wb), P<0,05). La mejora en los parámetros inflamatorios se correlacionó con la restauración del índice de De Ritis (GOT/GPT) a valores normales (Tc vs. control, P<0,05; Tc+15d vs control, P>0,05). El tratamiento disminuye la expresión del ARNm del factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) y TGF- β , y aumenta la expresión de IL-10 (qPCR, P<0,05). Con el objeto de estudiar si 15d o PPAR γ actúan a través de la vía de NF- κ B, se evaluó su activación en el tejido hepático. Observamos, que el tratamiento inhibe la translocación de la subunidad p65 de NF- κ B al núcleo (Wb, EMSA, P<0,05). En conclusión, demostramos que 15d, agonista natural de PPAR γ , es capaz de reducir significativamente la respuesta inflamatoria, la fibrosis y marcadores enzimáticos de daño hepático en ratones infectados con Tc.

131 - RECOMBINANT TcP21 AS POTENTIAL ADJUVANT FOR *Trypanosoma cruzi* VACCINES BASED ON LIVE ATTENUATED PARASITES

Cecilia Perez Brandan⁽¹⁾, Andrea Mesias⁽²⁾, Thaise L Teixeira⁽³⁾, Claudio Vieira da Silva⁽⁴⁾

⁽¹⁾Instituto de Patología Experimental- CONICET- Universidad Nacional de Salta. ⁽²⁾Instituto de Patología Experimental- CONICET- Universidad Nacional de Salta, Argentina. ⁽³⁾⁽⁴⁾Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade Federal de Uberlândia, Brasil.

E-mail: cecilia.perezbrandan@conicet.gov.ar

In the last years, vaccine research against *Trypanosoma cruzi* has gained renewed attention due, mainly, to the advances in vaccine technology and to economic models predicting that a therapeutic or prophylactic vaccine would be useful as an additional tool to control Chagas Disease in endemic areas. Several parasite antigens as well as DNA plasmids administered alone or in recombinant bacteria or virus as a delivery system have been evaluated showing promising results for further vaccine development. TcP21 is a ubiquitous secreted protein of *T. cruzi* and its role during parasite cell invasion is not

completely understood yet. However, recombinant TcP21 promotes parasite cell invasion and acts as a phagocytosis inducer by activating actin polymerization. Our goal was to study the immunogenicity and protective efficacy of the recombinant protein TcP21 in a mouse model of *T. cruzi* infection. For this purpose groups of mice were intraperitoneally vaccinated with the recombinant protein emulsified in saponin, given alone or in combination with live attenuated parasites, which have already demonstrated to induce a strong protective effect. Three weeks later, mice were given a similar booster vaccine. Four weeks after the last immunization, animals were challenged with a lethal dose of *T. cruzi* parasites. During the immunization period sera samples were collected for parasite specific IgGs and IgGs subtypes quantification and cytokines detection. Spleen was removed for lymphocytes isolation and further proliferation assays and cytokine production determination. After challenge, parasite load was recorded twice a week. Our results showed that when administered alone, recombinant TcP21 does not confer protection against a lethal challenge; however, when TcP21 is formulated with live attenuated parasites the protective capacity seems to be improved compared to the one obtained by immunization with live attenuated parasite alone. So far these results create the impression that recombinant TcP21 per se is not a good inducer of a protective response, nevertheless its incipient adjuvant properties leave the possibility to further evaluate this protein in view of generating new multicomponent vaccine formulations. This work is supported by Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica.

132 - EVALUACIÓN DEL ANTÍGENO TRIPARREDOXINA PEROXIDASA CITOSÓLICA DE *Trypanosoma cruzi* COMO CANDIDATO VACUNAL Y DE DIAGNÓSTICO PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Alexia Poato⁽¹⁾, Luz Peverengo⁽²⁾, Estefanía Prochetto⁽³⁾, Gabriel Cabrera⁽⁴⁾, Sergio Guerrero⁽⁵⁾, Iván Marcipar⁽⁶⁾, Diego Arias⁽⁷⁾, Iván Bontempi⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾Laboratorio de Tecnología Inmunológica. ⁽⁵⁾⁽⁷⁾Laboratorio de Enzimología Molecular.

E-mail: alexiapoato@gmail.com

La Triparredoxina Peroxidasa citosólica (CPX) de *Trypanosoma cruzi*, es un enzima clave del sistema dependiente de T(SH)₂ de dicho parásito. Este sistema participa en el mecanismo de defensa contra las especies reactivas de oxígeno (ROS) presentes en los fagosomas durante la infección, siendo clave para la supervivencia del parásito. La elevada sobreexpresión de la CPX durante la infección, como así también, la inexistencia de dicho sistema en mamíferos, la convierte en un candidato, para ser evaluado en tanto en vacunas como en diagnóstico.

Para evaluarla como candidato vacunal, grupos de ratones Balb/c (n=5) fueron inmunizados con tres dosis cada 15 días de la siguiente manera: CPX-ISPAs: CPX (10 ug) + ISPA (5 ug, un adyuvante desarrollado por nuestro grupo basado en liposomas y QuilA); CPX-AFs: CPX (10 ug) emulsionada con el adyuvante de Freund; CPXs: CPX (10 ug) sin adyuvante y un grupo control PBS. La inmunización generó altos niveles de anticuerpos específicos previo al desafío con el antígeno CPX (P<0,05 grupos CPX-ISPAs, CPX-AFs, CPX vs preinmune, Mann-Whitney). Además se obtuvo una relación IgG2a/IgG1 mayor a 1 para los grupos CPX-ISPAs, CPX-AFs. Del análisis de la reacción de hipersensibilidad retardada (DTH), únicamente el grupo CPX-ISPAs presentó diferencias significativas con el grupo control (P<0,01; CPX-ISPAs vs otros grupos, Mann-Whitney). 15 días de la última inmunización los grupos de ratones fueron desafiados con mil parásitos de la cepa Tulahuen. Los grupos no presentaron diferencias significativas en la parasitemia, ni en la sobrevivencia aunque el grupo CPX-ISPAs presentó un retraso en la curva de mortalidad de dos semanas con respecto al control.

El desempeño para diagnóstico se evaluó mediante ELISAs indirectos. Se optimizaron las condiciones del ensayo y luego se evaluó frente a un panel de sueros positivos y negativos (n=20), caracterizado por ELISA y HAI comerciales. La especificidad y sensibilidad obtenida fue del 94 % y 47 % respectivamente, siendo correlación kappa de 0,68 (Considerable). Concluimos que la enzima CPX, presentó elevada especificidad pero débil sensibilidad para ser usada como proteína de diagnóstico. Como candidato vacunal no

generó protección aunque se destaca el retardo en el inicio de la infección, parámetro que puede ser discutido como de potencial utilidad para ser coevaluado junto a otros candidatos en una formulación multicomponente.

133 - T. CRUZI : POLARIZACION DE LA RESPUESTA MACROFAGICA M1/M2 POR LIPIDOS DE AMASTIGOTES INTACTOS Y LISADOS DE DOS CEPAS DE COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO POLAR

Emanuel Bott, Federico N Penas, Ivanna E Carfagna, Estela M Lammel, Guadalupe Gimenez, Nora B Goren, María L Belaunzarán

Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM,UBA-CONICET).

E-mail: parasitodife@yahoo.com.ar

Demostramos previamente que durante la lisis de amastigotes (AMA) de T.cruzi (cepas RA letal y K98 no letal) se degradan lípidos endógenos con generación de lípidos bioactivos que participarían en procesos inflamatorios. Los macrófagos, primera línea de defensa en el control de las infecciones, pueden clasificarse en fenotipos M1 (activación clásica) y M2 (activación alternativa), los que representan dos extremos en el espectro de activación. El control de la infección por T.cruzi requiere la generación de una respuesta con perfil Th1, con activación clásica de macrófagos dependiente de IFN γ aunque este protozoario es capaz de evadir la respuesta inmune. En el presente trabajo analizamos marcadores M1/M2 de activación en macrófagos peritoneales murinos estimulados con lípidos totales (LT) de AMA RA y K98, intactos y lisados. Los LT de K98 intactos estimularon una mayor producción de óxido nítrico, expresión de óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) y secreción de TNF-alfa (marcadores M1) con respecto a los de K98 lisados. En el caso de los LT de RA intactos, los niveles de ON, iNOS y TNF-alfa fueron mayores que el ctrl., pero menores que los obtenidos con LT de K98 intactos, observando un efecto inhibitorio con LT de RA lisados. En relación a cuerpos lipídicos (CL), el incremento de su número durante las infecciones se correlaciona con la formación de eicosanoides a través de enzimas formadoras de estos mediadores lipídicos tales como ciclooxigenasa-2 (COX-2) y con la regulación de las actividades iNOS y

arginasa. Los LT de K98 y RA intactos indujeron la formación de CL, mientras que los LT de K98 y RA lisados tuvieron un efecto inhibitorio. En relación a COX-2, los LT de K98 intactos indujeron sus mayores niveles de expresión. Con respecto a la citoquina antiinflamatoria IL-10, se determinó que los LT de K98 lisados indujeron los mayores niveles de esta citoquina (Elisa) y de ARNm IL-10 (PCR en tiempo real). Más aun, los LT de K98 lisados fueron capaces de inducir actividad Arginasa. Analizamos además otros marcadores M2, por PCR en tiempo real, observando diferencias en la expresión de Receptor de manosa, YM y FIZZ1 con los diferentes estímulos. Estos resultados indican que los AMA de las cepas RA y K98, intactos/lisados, poseen lípidos bioactivos que modularían diferencialmente la respuesta inflamatoria en macrófagos, pudiendo contribuir en distinto grado a la patogenia de la Enfermedad de Chagas. Financiado por UBA/CONICET

134 - LEISHMANIA BRAZILIENSIS: POLARIZACIÓN DE LA RESPUESTA MACRÓFAGICA M1/M2 POR LÍPIDOS DE PROMASTIGOTES Y AMASTIGOTES INTACTOS Y LISADOS

Ivanna E Carfagna, Federico N Penas, Emanuel Bott, Estela M Lammel, Nora B Goren, María L Belaunzarán, Guadalupe Gimenez

Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM,UBA-CONICET).

e-mail: parasitodife@yahoo.com.ar

Leishmania spp. es un parásito intracelular transmitido por flebótomos. Los promastigotes (PRO) infectan macrófagos en huéspedes vertebrados, donde se multiplican como amastigotes (AMA). En Argentina, se ha detectado la coexistencia de *L.braziliensis*, *L.guyanensis* y *L.amazoniensis*, principales agentes causales de leishmaniasis cutánea humana. La limitación de la infección inicial depende de la activación de la inmunidad innata y existe evidencia del importante rol inmunomodulador que cumplen los lípidos de los microorganismos en este proceso. Los macrófagos constituyen un grupo muy heterogéneo con múltiples funciones dando lugar a su clasificación en fenotipos M1 (activación

clásica) y M2 (activación alternativa), dos extremos en el espectro de activación. En estudios previos hallamos diferencias cuantitativas en la composición lipídica de PRO y AMA de *L. braziliensis* intactos, así como también modificación de sus perfiles lipídicos durante la lisis parasitaria, con generación de lípidos bioactivos que participarían en procesos inflamatorios. Determinamos que los lípidos totales de AMA lisados, indujeron en macrófagos J774 una mayor liberación de óxido nítrico (ON) y expresión de la enzima inflamatoria ciclooxigenasa-2, seguidos por los lípidos de AMA intactos y en menor medida los lípidos de PRO intactos y lisados. El control de la infección por *Leishmania* spp. requiere la generación de una respuesta con perfil Th1, con activación clásica de macrófagos dependiente de IFN γ aunque este protozoario ha desarrollado diversas estrategias para evadir la respuesta inmune. En el presente trabajo hemos determinado en macrófagos peritoneales murinos que los lípidos de PRO intactos de *L.braziliensis* fueron capaces de inducir una alta actividad y expresión de Arginasa (marcador M2), seguidos por los lípidos de PRO lisados y AMA intactos y en menor medida los de AMA lisados. En relación a la inducción de ON y expresión de óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) (marcador M1), los lípidos de los AMA lisados fueron los que indujeron la mayor respuesta, seguidos por los lípidos de AMA intactos y PRO lisados y por último los de PRO intactos. Además, analizamos otros marcadores M2, por PCR en tiempo real, observando diferencias en la expresión de ARNm de IL-10, Receptor de manosa, FIZZ1 e YM por los diferentes estímulos. Los presentes resultados indicarían que los lípidos de PRO y AMA participarían en la modulación de la respuesta macrofágica. Financiado por CONICET.

135 - HIGH-DENSITY TILING PEPTIDE ARRAYS COVERING THE COMPLETE *Trypanosoma cruzi* PROTEOME FOR THE IDENTIFICATION OF NEW CHAGAS DISEASE ANTIGENS AND EPITOPES

Leonel Esteban Bracco, Santiago J Carmona, Fernán Agüero

IIB-INTECH - UNSAM - CONICET.

E-mail: lbracco@iib.unsam.edu.ar

The full set of antibody (B-cell) specificities associated with the response to a natural infection remain largely unexplored. We have developed a highly-multiplexed discovery platform based on next-generation high-density peptide microarrays and have demonstrated for the first time its potential to simultaneously identify and finely map hundreds of B-cell epitopes from a complex natural human infection (Carmona SJ et al 2015). We will next use this platform to obtain a complete map of the antibody specificities developed during chronic infections with *Trypanosoma cruzi* (Chagas Disease). For this we developed a bioinformatics pipeline written in R and Perl for designing peptide array sets that in concert can display all 15mer peptides in a proteome of interest. Through optimization of the amount of overlap between peptides to obtain the corresponding tiling representations, and through reduction of redundancy to minimize the number of repeated peptides, we were able to obtain a complete representation of our pathogen proteome while reducing significantly the array space required. Each array sector also contain random sequences to estimate the array signal baseline (negative control), as well as positive controls (known antigens). In this presentation, we will briefly summarize the use of the high-density peptide arrays for immune profiling of B-cell antigens and epitopes and will discuss the new peptide array designs for whole proteome epitope profiling.

136 - ESTUDIO DEL ROL DE LA CICLOFILINA D DEL HOSPEDADOR MAMÍFERO EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *Trypanosoma cruzi*

Patricia L Bustos⁽¹⁾, Natalia A Mildubeger⁽²⁾, Alina E Perrone⁽³⁾, Luz Piedad Quebrada Palacio⁽⁴⁾, Miriam Postan⁽⁵⁾, Jacqueline Bua⁽⁶⁾

⁽¹⁾⁽³⁾INP Dr. Mario Fatala Chabén. ⁽²⁾INP Dr. Mario Fatala Chabén; UAI. ⁽⁴⁾⁽⁵⁾INP Dr. Mario Fatala Chabén; CONICET. ⁽⁶⁾INNP Dr. Mario Fatala Chabén; CONICET; UAI.

E-mail: pato54mar@yahoo.com.ar

Las ciclofilinas son enzimas chaperonas presentes en todos los eucariotas y algunos

procariotas. La ciclofilina D (CyPD), de localización mitocondrial, está especialmente relacionada con los procesos de muerte celular ya que participa activamente en la apertura del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (mPTP), liberando factores pro-apoptóticos al citoplasma celular. La Ciclosporina A, inhibidor natural de las ciclofilinas, se une a la CyPD impidiendo la apertura del mPTP, con un efecto de protección ante la muerte celular regulada. Estos estudios, ya descriptos para otras patologías, no han sido aún realizados para los tejidos infectados con *Trypanosoma cruzi*. En la fase crónica, la enfermedad de Chagas puede provocar miocarditis en un 30% de los casos. Se han evidenciado daños asociados a la disfunción mitocondrial en los cardiomiocitos infectados que pueden llevar a la muerte celular. Para estudiar el rol de la CyPD en los tejidos infectados por *T. cruzi*, utilizamos ratones transgénicos deficientes de ciclofilina D (ratones Ppif^{-/-}) como modelo experimental. Realizamos infecciones in vivo con *T. cruzi*, cepa Tulahuén, donde observamos que los ratones Ppif^{-/-} presentaron menor sobrevivencia que los de tipo salvaje y mayor parasitemia entre los días 9 y 30 post infección. Durante la etapa aguda, analizamos los daños causados por la infección mediante técnicas de histopatología en preparados de corazón, hígado, bazo y músculo esquelético. Si bien no se encontraron diferencias significativas en los índices inflamatorios, los bazos provenientes de ratones Ppif^{-/-} presentaron una arquitectura atípica en los folículos en comparación con lo observado en los animales de tipo salvaje. En estudios in vitro, se realizaron infecciones en macrófagos, donde se observó que las células provenientes de animales transgénicos presentaron menor porcentaje de infección y menor número de amastigotes por célula que los ratones wild type. Los resultados mostraron que los animales Ppif^{-/-}, que no expresan la ciclofilina D, presentaron un curso diferencial de la infección por *T. cruzi*, respecto a los animales de tipo salvaje. Este proyecto es financiado por PICTO – ANLIS 00136/2011, Focanlis 2014 y CAECIHS – UAI

137 - POLIMORFISMOS DEL NR3C1 EN EL DESEQUILIBRIO INMUNOENDÓCRINO ¿POSIBLES MARCADORES PREDICTIVOS DE CARDIOPATÍA CHAGÁSICA?

Antonela Simonetto⁽¹⁾, Mariana Baroni⁽²⁾, María L Bizaí⁽³⁾, Verónica Olivera⁽⁴⁾, Elena Ross⁽⁵⁾, María I Chierichetti⁽⁶⁾, Evelyn Arias⁽⁷⁾, Oscar Bottasso⁽⁸⁾, Diana Fabbro⁽⁹⁾, Cristina Diez⁽¹⁰⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽¹⁰⁾Laboratorio de Biología Molecular e Inmunología Aplicadas, FBCB, UNL. ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁷⁾⁽⁹⁾Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales, FBCB, UNL. ⁽⁵⁾⁽⁶⁾Hospital Dr. Juan Bautista Alberdi, Rosario, Santa Fe. ⁽⁸⁾Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER, UNR-Conicet).

E-mail: antosimonetto@gmail.com

No se conoce totalmente por qué la infección por *Trypanosoma cruzi* presenta una evolución clínica tan variable, desde ausencia completa de síntomas hasta desarrollo de lesiones cardíacas y/o digestivas de diferente severidad. La cepa parasitaria y las características inmunogenéticas del hospedero, entre otros, podrían estar influyendo en la patogénesis de la enfermedad de Chagas. Conocido el papel de la inflamación en la génesis y progresión de esta enfermedad, ha cobrado interés el estudio de la participación del sistema inmunoendócrino en este proceso. Las citoquinas pro inflamatorias estimulan la secreción de esteroides adrenales, con una influencia importante en la inmunidad anti infecciosa, como se ha demostrado en estudios experimentales de infección por *T. cruzi*. La disrupción de estas interacciones inmunoendócrinas se ha encontrado asociada con síndromes que incluyen enfermedades inflamatorias crónicas, autoinmunes y cardiovasculares. Las mismas podrían estar relacionadas con polimorfismos en los genes de moléculas claves en esta interacción, como por ejemplo el receptor de glucocorticoides (NR3C1), modificando la sensibilidad a la acción del cortisol endógeno. Entre los funcionalmente más relevantes se encuentran los polimorfismos de un único nucleótido (SNP) N363S, Bcl1 y GR-9β. Actualmente, estamos evaluando el GR-9β en una población de infectados crónicos a través de la técnica de Disociación con alta resolución (HRM, del inglés "High Resolution Melting"). Resultados preliminares en una muestra de 64 individuos, permitieron identificar un 89% de portadores homocigotas para el gen salvaje, un 9,4% de heterocigotas y un 1,6% de homocigotas para el gen mutado. Paralelamente, se está realizando la puesta a punto de los SNP Bcl1 y

N363S. La eventual asociación de estos polimorfismos con el desarrollo de cardiopatía chagásica permitirá valorar grupos de riesgo y evaluar el posible uso de los mismos como marcadores predictivos en individuos asintomáticos.

138 - ANTICUERPOS ESPECÍFICOS CONTRA ARGININA QUINASA DE *Trypanosoma cruzi* EN SUEROS DE PACIENTES: LA PRESENCIA DE IGE SEÑALA POSIBLE ROL INMUNOMODULADOR

Edward A Valera-Vera⁽¹⁾, Juan L Concepción⁽²⁾, Ana J Cáceres⁽³⁾, Chantal Reigada⁽⁴⁾, Melisa M-Sayé⁽⁵⁾, Fabio DiGirolamo⁽⁶⁾, Mariana R Miranda⁽⁷⁾, Claudio A Pereira⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾Laboratorio de Parasitología Molecular. Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari (IDIM-CONICET). ⁽²⁾⁽³⁾Laboratorio de Enzimología de Parásitos, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

E-mail: edwardverval@gmail.com

La arginina quinasa (AK) es una transferasa de fosfágeno ampliamente distribuida en invertebrados. Cataliza la fosforilación reversible de arginina a fosfoarginina, creando reservas de fosfatos de alta energía que permitan regenerar el ATP celular en condiciones de alta demanda energética. La AK se ha reportado en distintas especies de trypanosomatidos de los géneros *Trypanosoma* y *Phytomonas*, y el análisis filogenético de estas proteínas indica que su aparición en estos organismos se debe a un evento de transferencia horizontal desde los artrópodos. La AK de distintos artrópodos ha sido reportada como alérgeno, generando respuestas de hipersensibilidad caracterizada por la producción de IgE. Durante el curso de la infección en el mamífero con *T. cruzi*, sólo una respuesta inmune Th1 es efectiva para eliminar las células infectadas, de modo que una desviación de la respuesta hacia la producción de IgE, y por ende de tipo Th2, constituiría una ventaja del parásito que le permitiría evadir al sistema inmune del hospedador. Por esta razón nos planteamos si la AK de *T. cruzi* es capaz de generar una respuesta inmune de secreción de anticuerpos IgE. Para ello se hizo una detección por ELISA de IgE e IgG específicos contra la AK recombinante en sueros de 49 pacientes

chagásicos crónicos y 46 sueros de personas no infectadas, todos de la región occidental de Venezuela (Estados Mérida, Zulia y Barinas). Los resultados obtenidos se sometieron a análisis estadístico no paramétrico, encontrándose diferencias significativas entre los dos grupos evaluados para la presencia de ambos isotipos de anticuerpos ($p < 0,005$). Estos resultados indican que la AK de *T. cruzi* podría cumplir funciones inmuno-moduladoras que faciliten la invasión del hospedador. Futuras evaluaciones de las subclases de IgG y los perfiles de citoquinas que se producen en respuesta a la AK confirmarían este nuevo rol de la enzima.

139 - NIVELES SÉRICOS DE INTERLEUQUINAS (IL-6 E IL-10) Y PROTEÍNA C REACTIVA (CRP) EN INFECTADOS CHAGÁSICOS CRÓNICOS CON Y SIN CARDIOPATÍA

Antonela Simonetto⁽¹⁾, Mariana Baroni⁽²⁾, Verónica Olivera⁽³⁾, María L Bizal⁽⁴⁾, Gloria Gallegos⁽⁵⁾, Evelyn Arias⁽⁶⁾, Diana Fabbro⁽⁷⁾, Cristina Diez⁽⁸⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁸⁾Laboratorio de Biología Molecular e Inmunología Aplicadas, FBCB, UNL. ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales, FBCB, UNL.

E-mail: antosimonetto@gmail.com

Más allá de las distintas hipótesis que se manejan hasta el presente, es indiscutible el papel clave que juega la inflamación tanto en la génesis como en la progresión de la cardiopatía chagásica crónica (CCC). Las células del sistema inmune producen un incremento de la síntesis de moléculas proinflamatorias, las cuales podrían tener valor pronóstico en relación a la progresión de la enfermedad. Al respecto, trabajos reportados de infección por *T. cruzi* han demostrado correlación directa entre concentraciones de interleuquina 6 (IL-6) y evolución clínica hacia la etapa más grave de la enfermedad, en la cual también se observó un aumento de la Proteína C Reactiva (CRP), relacionándolas al proceso inflamatorio crónico. Esto sugeriría un mayor daño celular por inflamación que lleva al deterioro de la función cardíaca. En este trabajo hemos analizado los niveles séricos de IL-6, IL-10 y CRP ultrasensible (hsCRP) en infectados crónicos asintomáticos y

con cardiopatía, a fin de evaluarlos como posibles marcadores serológicos en el desarrollo de cardiopatía. De los 74 individuos estudiados hasta el presente, se obtuvieron valores para IL-6 de 10,56 pg/ml (RIC 0-33,88) en los CCC y de 19,8 pg/ml (RIC 3,62-45,15) en los asintomáticos; mientras que los valores para IL-10 fueron de 2,47 pg/ml (RIC 0-4,1) y 3,08 pg/ml (RIC 0,67-7,50), y para usCRP de 0,13 mg/dl (0,05-0,29) y 0,15 mg/dl (0,09-0,28), respectivamente. Si bien los valores séricos de estas tres moléculas mostraron ser mayores en el grupo asintomático, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas. La evaluación en una muestra de mayor tamaño permitirá realizar una valoración más acabada de estas moléculas como marcadores pronósticos tempranos de desarrollo de CCC en pacientes infectados con *T. cruzi*,

140 - INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN PLACENTAS HUMANAS IN VITRO EX VIVO INDUCE LA PRODUCCIÓN DE MIF, MMP-9 Y TNF α

Evangelina Benizio⁽¹⁾, María Fernanda Triquell⁽²⁾, María J Moreira-Espinoza⁽³⁾, Marianela Varas-Messler⁽⁴⁾, Luciana Mezzano⁽⁵⁾, Mariana Piegari⁽⁶⁾, Ricardo Corral⁽⁷⁾, Ricardo Fretes⁽⁸⁾, Cintia M Díaz-Luján⁽⁹⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾Cátedra Biología Celular, Histología y Embriología, FCM-INICSA (CONICET- UNC). ⁽³⁾⁽⁴⁾INICSA (CONICET- UNC). ⁽⁷⁾Servicio de Parasitología-Chagas, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina..

E-mail: evangelinabenizio88@gmail.com

La enfermedad de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Con la creciente globalización y la inmigración, se ha convertido en un riesgo en cualquier país, a través de la transmisión congénita. El embarazo es una situación especial en la enfermedad de Chagas, debido a que la madre tiene un cambio en su sistema inmunológico, con un predominio de citoquinas del perfil Th2. Pero, en embarazadas con Chagas, hay un predominio de citoquinas Th1 pro-inflamatorias, pudiendo este perfil de citoquinas participar en la transmisión congénita de la enfermedad. El objetivo fue evaluar la expresión y posible regulación de

citoquinas pro-inflamatorias y MMP-9 en vellosidades coriónicas en co-cultivos in vitro ex vivo con *T. cruzi*. Se cultivaron explantos placentarios humanos (n= 4 placentas) por 4 y 24 hs con 1×10^5 trypomastigotes de *T. cruzi*, cepa Tulahuen, como control explantos cultivados sin parásito (n= 4 placentas). En el tejido se determinó, invasión parasitaria por qPCR y expresión del Factor de inhibición de migración de macrófagos (MIF) mediante inmunohistoquímica (IHQ). En los sobrenadantes de medios de cultivos se cuantificó, la producción de IL-6 y TNF α por ELISA, además se analizó la actividad de MMP-9 mediante zimografía. Se verificó invasión parasitaria en el tejido placentario a las 4 y 24 hs, acompañada de un incremento significativo de TNF α ($p < 0,05$) y de la actividad de MMP-9 en el sobrenadante de cultivo, sin modificaciones significativas en la producción de IL-6. Se observó que *T. cruzi* aumentó la expresión de MIF en el sinciotrofoblasto (STB) y células estromales ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren que en las primeras 24 hs de interacción barrera placentaria-*T. cruzi*, MIF podría estar modulando la expresión de citoquinas pro-inflamatorias como TNF α y mediante éste, la producción de ON con incremento de estrés oxidativo y nitrosativo (demostrado en trabajos previos). Por un lado, esto podría tener un efecto deletéreo contra *T. cruzi* y por otro, mediar alteraciones del tejido placentario; ya que MIF (producido por macrófagos y STB) regula la expresión de MMP-9, entre otras MMPs, pudiendo esto causar daños en matriz extracelular o membrana basal de la barrera placentaria. Un delicado equilibrio entre los mecanismos de protección y daño de la barrera placentaria podría estar determinando la transmisión congénita de la enfermedad.

Financiamiento: SECyT-UNC, PID-MINCYT-Córdoba, PICT-2012-1061, UNVM, PICT-V-2015-0074.

141 - SHIFT IN THE HUMORAL RESPONSE ELICITED BY *Trypanosoma cruzi* ATTENUATED PARASITES WHEN COADMINISTERED WITH A PLASMID ENCODING MURINE IFN-GAMMA

Cecilia Perez Brandan⁽¹⁾, *Andrea Mesias*⁽²⁾, *Rubén Cimino*⁽³⁾, *Patricio Diosque*⁽⁴⁾, *Miguel Ángel Basombrío*⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ *Instituto de Patología Experimental- CONICET- Universidad Nacional de Salta.*
⁽³⁾ *Catedra de Química Biológica. UNSa.*

E-mail: cecilia.perezbrandan@conicet.gov.ar

In *Trypanosoma cruzi* infection it is known that early interferon-gamma (IFN- γ) release by cells of the innate immune system is critical to lead type 1 response able to control intracellular parasites. Therefore, the aim of the present study was to test whether the co-administration of a plasmid encoding IFN- γ could improve the well proven high protection obtained through vaccination with live attenuated parasites belonging to TCC strain. For this purpose C57BL/6J mice were immunized with three doses of live metacyclic TCC parasites in combination with plasmid pVXVR-mIFN- γ . The immunization regimens were done intraperitoneally every 4 weeks. Sera levels of *T. cruzi*-specific IgGs were evaluated by ELISA. After the 1st immunization dose specific IgGs were detectable in the group of mice in which pVXVR-mIFN- γ was administered in combination with TCC attenuated parasites and the antibody levels increased significantly after the second dose. IgG1 were primarily detected in TCC-immunized animals with significantly low predominance of IgG2a antibodies; however when pVXVR-mIFN- γ is administered a balance between IgG1 and IgG2a is almost reached. These results indicate that the addition of a plasmid encoding murine IFN- γ elicited an enhanced parasite-specific humoral response capable of redirecting the Th2-type phenotype obtained by the immunization with TCC attenuated parasites towards a Th1-type. To analyze if the immune response elicited by the administration of IFN- γ in conjunction with live attenuated parasites protects against a future infection, all experimental groups were submitted to a lethal challenge with virulent bloodstream tripomastigotes. A significant reduction in parasite load was observed in all groups immunized with live attenuated parasites as expected; however, in the group of mice in which pVXVR-mIFN- γ was also administered a reduction even more noticeable was detected. These results support the idea of generating a multicomponent vaccine based on live attenuated parasites. This work is

funded by Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica.

142 - LA INFECCIÓN CON NEOSPOORA CANINUM PROVOCA UN DESBALANCE OXIDATIVO E INFLAMATORIO EN LA PLACENTA EN UN MODELO MURINO DE NEOSPOROSIS CONGENITA.

VALERIA SANDER, EDWIN SANCHEZ, ROMINA ALBARRACIN, SOFIA BENGUA-LUONI, MARIANA CORIGLIANO, MARINA CLEMENTE

IIB INTECH.

E-mail: valeriasander@intech.gov.ar

La neosporosis bovina es considerada actualmente la causa principal de abortos y pérdidas reproductivas en el ganado. La muerte fetal producto de ésta patología ha sido asociada, entre otros factores, con el daño ocasionado directa o indirectamente por la multiplicación de *Neospora caninum* en la placenta. Sin embargo, los mecanismos moleculares relacionados con el daño del tejido materno-fetal aún se desconocen. El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar el balance oxidativo, el perfil de citoquinas y parámetros reproductivos en un modelo murino de neosporosis congénita. Brevemente, el día 7,5 de preñez hembras BALB/c fueron divididas en 2 grupos; uno recibió una dosis subcutánea de 2.10^6 taquizoitos NC-1 (NC-1), y otro recibió PBS 1X (control: C). Todas las hembras fueron sacrificadas el día 17,5 de preñez. Se tomaron muestras de sangre para la determinación de citoquinas e Inmunoglobulinas(IgGt) totales, IgG1 e IgG2a contra *N. caninum* por ELISA. Asimismo, se examinó el útero y se determinó el número de unidades feto-placentarias (UFP) y de reabsorciones embrionarias (RE) por cada hembra. Se extrajeron las UFP y se separaron las placentas para la evaluación de especies reactivas del oxígeno (ROS), peroxidación lipídica (MDA), concentración de la enzima catalasa (CAT), actividad de la superóxido dismutasa (SOD) y la determinación por RT-qPCR de IL-4 e IFN-gamma. El 75% de las hembras NC-1 presentaron RE, mientras que las C no lo

hicieron. Todas las hembras NC-1 mostraron anticuerpos específicos (IgGt) contra el parásito, evidenciándose un aumento mayor del isotipo IgG2a que del isotipo IgG1. Asimismo, la infección con NC-1 se vio asociada a un aumento significativo de la concentración sérica y la expresión génica de IFN-gamma ($p<0.05$), y al aumento de la expresión génica de IL-4. IL-4 e IL-10 no fueron detectables por ELISA. Por último, la infección con *N. caninum* generó en la placenta un incremento significativo de las ROS ($p<0.05$) y el MDA ($p<0.05$), probablemente debido a una acumulación del radical superóxido o peroxinitritos, ya que la SOD se encontró significativamente disminuida ($p<0.05$), mientras que la actividad de la enzima CAT se encontró incrementada ($p<0.05$). Estos resultados nos permiten sugerir que la infección con *N. caninum* durante la preñez genera un estado inflamatorio tanto a nivel sistémico como placentario, caracterizado por un incremento en la secreción y expresión de citoquinas y asociado a un desbalance oxidativo.

143 - ALTERACIONES EN EL PERFIL METABÓLICO Y LOS NIVELES DE ADIPOQUINAS Y SUS RECEPTORES EN INDIVIDUOS CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA

Florencia B González(1), Luciano D'Attilio(2), Susana Lioi(3), Lorena Scaglione(4), Rodolfo Leiva(5), Oscar Bottasso(6), Juan Beloscar(7), Silvina Villar(8), Ana R Pérez(9)

(1)(2)(6)(8)(9) IDICER - Rosario. (3)(4)(5)(7) Servicio y Cátedra de Cardiología, Hospital Centenario y Facultad de Ciencias Médicas UNR.

E-mail: gonzalezflorenciab@gmail.com

La Enfermedad de Chagas (EC) puede resultar en el desarrollo de miocardiopatía chagásica crónica (MCC). Los individuos con MCC presentan un estado pro-inflamatorio exacerbado con elevados niveles de IL-6 y TNF- α . El tejido adiposo (TA) es un órgano con capacidad de producir gran variedad de mediadores y en los últimos años fue identificado como un órgano target en la infección por *T. cruzi*, lo que podría tener consecuencias sobre la producción de adipoquinas y el metabolismo energético. El objetivo de este trabajo fue estudiar si en el

contexto de la infección por *T. cruzi* crónica humana se encontraban alteraciones en el metabolismo energético y en los niveles de adipocinas y sus receptores; y si estas alteraciones guardaban relación con el desarrollo y la severidad de la MCC. Se reclutaron 40 individuos sanos (Co) y 140 individuos con serología positiva para *T. cruzi*, los que fueron clasificados como Asintomáticos (Asi; sin MCC, n=42) y con MCC (c/MCC), los cuales a su vez fueron sub-clasificados en Leves (Lev; n=27) y Severos (Sev; n=32). Se evaluó el estado metabólico de los pacientes a través de la medida del índice de masa corporal (IMC), los niveles plasmáticos de triglicéridos, insulina, glucosa e índice HOMA-IR. Los individuos con EC presentaron mayores IMC y niveles de triglicéridos que los Co ($p < 0.05$). La glicemia fue mayor en los grupos Lev y Sev respecto los controles ($p < 0.05$) y el índice HOMA-IR también se encontró aumentado en estos grupos ($p < 0.05$). Los niveles de leptina fueron mayores en los pacientes c/MCC y Lev en comparación con los controles ($p < 0.05$ y $p < 0.001$ respectivamente), mientras que la concentración de adiponectina disminuyó tanto en los Asi ($p < 0.001$) como en los Lev ($p < 0.05$). La expresión (por RT-pPCR) de los receptores de leptina (ObR) y adiponectina (Adipo-R1 y R2) en células mononucleares de sangre periférica (CMSP) mostró una disminución en la expresión de ObR en los c/MCC respecto de los Co y Asi ($p < 0.05$) y un aumento en la expresión de Adipo R1 en los Sev respecto de los Co ($p < 0.05$). A su vez los pacientes c/MCC presentaron una tendencia a mayores niveles de Adipo R2. La expresión de PPAR- γ (factor de transcripción involucrado en la respuesta anti-inflamatoria y metabólica) en las CMSP tendió a aumentar a medida que aumentó la severidad de la patología cardíaca. Nuestros resultados sugieren que los desbalances en las respuestas inmunológica y metabólica podrían estar relacionados con la severidad de la MCC.

144 - ESTUDIO DE LAS ISOFORMAS INACTIVAS DE TRANS-SIALIDASA EN LA INFECCIÓN POR TRYPANOSOMA CRUZI

Carla A Pascuale, Juan M Burgos, Andrés Lantos, Juan Mucci, Oscar Campetella, María S Leguizamón

IIB-UNSAM-CONICET. carlapascuale@gmail.com

Trypanoma cruzi (*T. cruzi*) es incapaz de sintetizar ácido siálico, esto lo resuelve mediante la enzima trans-sialidasa (TS) que transfiere ácido siálico desde los glicoconjugados del huésped hacia las mucinas de su superficie. TS es un factor de virulencia involucrado en procesos de invasión celular, apoptosis en células del sistema inmune, trombocitopenia, etc. La familia de TS contiene miembros enzimáticamente activos (TSa) e inactivos (TSi), actividad determinada por una mutación puntual His/Tyr (342). *T. cruzi* está organizado en 6 unidades discretas de tipificación (UDT I-VI). Hemos comunicado que las cepas de alta virulencia incluidas en las UDTs II, V y VI contienen genes codificantes para ambas isoformas (TSa y TSi), mientras que las de baja virulencia (UDT I, III y IV) contienen únicamente genes para TSa. Con el fin de analizar si TSi es un factor de virulencia o actúa en asociación con TSa, generamos parásitos transfectados con TSi. Utilizamos la cepa K-98 (UDT I) que naturalmente carece de esta isoforma y una construcción que contiene el gen de TSi, sus regiones regulatorias y la secuencia 3xFLAG (epitope que nos permite distinguirla de la TS endógena). Analizamos la expresión en tripomastigotes de TSi por microscopía confocal y citometría. Ensayos in vitro en células no fagocíticas, mostraron que los parásitos que expresan 3xFLAG/TSi muestran mayor infección en cultivos primarios de cardiocitos y fibroblastos de ratas neonatas (* $P < 0.0238$ y * $P < 0.0357$, respectivamente) y mayor replicación intracelular (** $P < 0.001$, en ambos casos) respecto a los controles (3xFLAG/TSa o vector vacío). Por otra parte, los ensayos en células fagocíticas (cultivos primarios de macrófagos murinos) no mostraron diferencias en la infección entre los distintos grupos en el grado de replicación (** $P: 0,0031$) con respecto a los controles. Los resultados preliminares in vivo infectando ratones BALB/cJ de 2 meses de edad con los parásitos 3xFLAG/TSi (obtenidos de ratones CF1 de 15 días) mostraron un 50% de mortalidad de TSi respecto al control (75%) y también mayor inflamación. La comparación entre grupos se realizó mediante t de Student. Estos resultados muestran que TSi per se o en asociación con TSa, actúa como otro factor de virulencia en la infección por *T. cruzi*.

145 - IMPACTO DE FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS EN LA TRANSMISIÓN DE CHAGAS CONGÉNITO.

Lorena Verónica Olivera, Santiago M Suasnabar, María L Bizai, Evelyn E Arias, Susana Denner, Diana L Fabbro
CIEN-FBCB-UNL.

E-mail: veronicaolivera@yahoo.com.ar

El conocimiento acerca de los mecanismos involucrados en la transmisión congénita es aún limitado. El objetivo fue evaluar el impacto de los antecedentes epidemiológicos de las mujeres infectadas con *Trypanosoma cruzi* en la transmisión congénita. Se estudiaron 65 madres con infección chagásica crónica residentes en Santa Fe, con seguimiento clínico, serológico y epidemiológico mayor de 15 años y, 196 hijos biológicos de esas mujeres. Se detectaron 44 hijos infectados. De ellos 23 tenían como único antecedente la serología materna positiva (transmisión congénita 11,7%). Transmitieron la

infección 16 madres y 5 de ellas a más de un hijo. La transmisión transplacentaria según edad de la madre fue de: 14% (6/42) en < 20 años; 9,5% (12/126) en madres entre 20-29; y 17,8% (5/28) en > 30. Si bien en estas últimas la transmisión congénita fue mayor, las diferencias no fueron significativas (Pearson, $p > 0,05$). Residieron en área endémica 44/65 madres, y transmitieron la infección 8/44 (18,2%). No migraron 21/65 y la transmisión del parásito ocurrió en 6/21 (38,1%) madres. El tiempo de permanencia promedio de la madre en área no endémica al nacimiento del hijo fue de 22 años en las madres que transmitieron y 14 en las que no. La diferencia fue significativa (Mann-Whitney, $p < 0,05$). Se realizó Xd a 28/65 madres. Se demostró el parásito en 16 y transmitieron 5. Las madres con Xd(-) ($n=12$) no tuvieron hijos infectados. El antecedente transfusional en las madres en relación al riesgo de transmisión congénita no fue significativo (3/16 vs 13/49; Fisher, $p > 0,05$). El antecedente materno(+) estuvo presente en 28 madres y en 5 no. Las restantes 32, desconocían. De las primeras, 5 transmitieron y 4 lo hicieron a más de un hijo. Conclusión. Fue relevante el antecedente materno(+) en las madres que transmitieron la infección a más de un hijo. La parasitemia detectable se asoció a mayor riesgo de transmisión. A menor exposición materna a reinfecciones mayor riesgo de transmisión congénita.

ÍNDICE DE RESÚMENES Y COMUNICACIONES ORALES

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

1- TRANSLATIONAL CONTROL IN *T. CRUZI*..... 28

Maria Camara⁽¹⁾, *Santiago Bertotti*⁽²⁾, *Juan D Alfonzo*⁽³⁾, *Calos A Buscaglia*⁽⁴⁾

2 - CENTRAL ROLE OF GLUTAMINE BIOSYNTHESIS IN THE NITROGEN HOMEOSTASIS OF *Trypanosoma cruzi* 28

Marcell Crispim⁽¹⁾, *Flávia Silva Damasceno*⁽²⁾, *Agustín Hernández López*⁽³⁾, *María Julia Barisón*⁽⁴⁾, *Raphael Souza Pavaní*⁽⁵⁾, *Maria Carolina Quartim Barbosa Elias Sabbaga*⁽⁶⁾, *Ariel Mariano Silber*⁽⁷⁾

3 - GENÉTICA POBLACIONAL DE LUTZOMYIA LONGIPALPIS S.L. (DIPTERA: PSYCHODIDAE), VECTOR DE LEISHMANIA INFANTUM EN ARGENTINA 29

Angélica Pech May⁽¹⁾, *Janine Ramsey*⁽²⁾, *Domingo Liotta*⁽³⁾, *Magali Giuliani*⁽⁴⁾, *Pablo Berrozpe*⁽⁵⁾, *Quintana María Gabriela*⁽⁶⁾, *Oscar Daniel Salomón*

4 CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL Y BIOQUÍMICA DEL TRANSPORTE DE RIBOFLAVINA EN TRIPANOSOMÁTIDOS 29

Dario Balcazar⁽¹⁾, *Hernán Bonomi*⁽²⁾, *Carolina Carrillo*⁽³⁾

5 - RATIONAL DESIGN OF NITROFURAN DERIVATIVES: SYNTHESIS OPTIMIZATION, AND VALUATION AS INHIBITORS OF *Trypanosoma cruzi* TRYPANOTHIONE REDUCTASE 30

Diego G Arias⁽¹⁾, *Fernando E Herrera*⁽²⁾, *Alberto S Garay*⁽³⁾, *Daniel Rodrigues*⁽⁴⁾, *Pamela S Forastieri*⁽⁵⁾, *Liliana E Luna*⁽⁶⁾, *María DLM Bürgi*⁽⁷⁾, *Claudio Prieto*⁽⁸⁾, *Alberto A Iglesias*⁽⁹⁾, *Sergio A Guerrero*⁽¹⁰⁾ 30

6 - ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE PROLINA: EFECTO TRIPANOCIDA Y ACCIÓN SOBRE EL TRANSPORTADOR DE PROLINA TCAAAP069 DE *Trypanosoma cruzi* 30

Melisa M Sayé⁽¹⁾, *Lucía Fargnoli*⁽²⁾, *Guillermo Labadié*⁽³⁾, *Claudio A Pereira*⁽⁴⁾

7 - CARACTERIZACIÓN CINÉTICA Y ESTRUCTURAL DE LA UDP-GLUCOSA PIROFOSFORILASA DE EUGLENA GRACILIS 31

Robertino J Muchut, *Diego G Arias*, *Alberto A Iglesias*, *Sergio A Guerrero*

8 - GENOTIPOS DE *T. GONDII* EN CASOS DE TOXOPLASMOSIS AGUDA EN MUJERES GESTANTES EN ARGENTINA 31

Mariana Bernstein⁽¹⁾, *Lais L Pardini*⁽²⁾, *Liliana A Carral*⁽³⁾, *María L Gos*⁽⁴⁾, *Gastón A Moré*⁽⁵⁾, *Federico J Kaufer*⁽⁶⁾, *Andrea Dellarupe*⁽⁷⁾, *Cristina Freuler*⁽⁸⁾, *Juan M Unzaga*⁽⁹⁾, *Ricardo A Durlach*⁽¹⁰⁾, *María C Venturini*⁽¹¹⁾

9 - MECANISMOS MOLECULARES ACTIVADOS POR INTERACCIÓN DE LOS ANTICUERPOS CONTRA LAS PROTEÍNAS RIBOSOMALES P DE T. CRUZI SOBRE LOS RECEPTORES CARDÍACOS 32

Laura M Tasso⁽¹⁾, Alejandro F Benatar⁽²⁾, Magalí C Girard⁽³⁾, Gonzalo R Acevedo⁽⁴⁾, Gonzalo Greif⁽⁵⁾, Carlos Robello⁽⁶⁾, Karina A Gómez⁽⁷⁾

11 - DISTRIBUCIÓN TISULAR DE LINAJES DE T. cruzi LUEGO DE DISTINTOS TRATAMIENTOS TRIPANOCIDAS DURANTE LA ETAPA AGUDA DE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL..... 33

Mariana Strauss⁽¹⁾, Juan C Ramírez⁽²⁾, Silvina Lo Presti⁽³⁾, Carolina Bazán⁽⁴⁾, Alejandra L Báez⁽⁵⁾, Patricia Paglini⁽⁶⁾, Alejandro Schijman⁽⁷⁾, Walter Rivarola⁽⁸⁾

12 - THE PROTEIN TcHTE OF Trypanosoma cruzi IS INVOLVED IN HEME TRANSPORT 34

Lucas Pagura, Brenda A Cirulli, Marcelo L Merli, Julia A Cricco

13 - DISRUPCIÓN DEL GEN H2AZ DE TOXOPLASMA GONDII MEDIANTE EL SISTEMA CRISPR/CAS9 35

Sebastián Balerini, Laura Vanagas, Agustina Ganuza, Sergio O. Angel

14 - “TCLP1, una nueva proteína del bolsillo flagelar homóloga a chaperonas bacterianas e implicada en el crecimiento de formas replicativas de T. cruzi,” 35

Raúl Takada, María de los Milagros Cámara, Gabriel Briones, Carlos A Buscaglia, Ignacio M Durante

15 - ESTUDIO DE LA NUCLEÓSIDO DIFOSFATO QUINASA 1 DE Trypanosoma cruzi Y SU PARTICIPACIÓN EN MECANISMOS DE REPARACIÓN DEL ADN 36

Melisa M Sayé, Chantal Reigada, Edward Valera-Vera, Fabio diGirolamo, Claudio A Pereira, Mariana R Miranda

16 - ESTUDIO DE RETINOIDES COMO INHIBIDORES DEL TRANSPORTE DE POLIAMINAS Y AMINOÁCIDOS EN Trypanosoma cruzi..... 36

Chantal Reigada⁽¹⁾, Edward A Valera-Vera⁽²⁾, Carla C Avila⁽³⁾, Melisa M Saye⁽⁴⁾, Mariana R Miranda⁽⁵⁾, Claudio A Pereira⁽⁶⁾

17 - IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS INHIBIDORES DE BROMODOMINIOS DE Trypanosoma cruzi A PARTIR DE PRODUCTOS NATURALES MODIFICADOS 37

Victoria L Alonso⁽¹⁾, I Ayelen Ramallo⁽²⁾, Federico Rúa⁽³⁾, Esteban Serra⁽⁴⁾, Ricardo Furlan⁽⁵⁾

18 - CROMOSOMAS ARTIFICIALES COMO PLATAFORMA PARA LA EXPRESIÓN DEL SISTEMA CRISPR/CAS9 EN Trypanosoma cruzi..... 38

Matias Romero Victorica⁽¹⁾, Guillermo D. Alonso⁽²⁾, Alejandro G. Schijman⁽³⁾, María de los Ángeles Curto⁽⁴⁾

19 - RECONSTITUTION OF THE MITOCHONDRIAL CALCIUM UNIPORTER (MCU) IN *Trypanosoma cruzi* KNOCKOUT EPIMASTIGOTES 38

Miguel A Chiurillo⁽¹⁾, *Noelia Lander*⁽²⁾, *Mayara Bertolini*⁽³⁾, *Aníbal Vercesi*⁽⁴⁾, *Roberto Docampo*⁽⁵⁾

20 - THE TcIP3R LOCALIZES TO ACIDOCALCISOMES AS CONFIRMED BY CRISPR/CAS9-MEDIATED ENDOGENOUS C-TERMINAL TAGGING IN *Trypanosoma cruzi* 39

Noelia Lander⁽¹⁾, *Miguel A Chiurillo*⁽²⁾, *Melissa Storey*⁽³⁾, *Aníbal E Vercesi*⁽⁴⁾, *Roberto Docampo*⁽⁵⁾

21 - IDENTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS QUE SE ASOCIAN A TCCALI, UNA PROTEÍNA HIPOTÉTICA DE UNIÓN A CALCIO EXPRESADA EN *Trypanosoma cruzi* 40

Mariana Potenza, *Diana P Wehrendt*, *María T Tellez-Iñón*

22 - IDENTIFICATION AND STUDY OF A PUTATIVE CATALYTIC SUBUNIT AMPK α IN TRYPANOSOMA BRUCEI AND *Trypanosoma cruzi* 40

Patricio Genta, *Tamara Sternlieb*, *Guillermo D Alonso*, *Alejandra C Schoijet*

23 - ROLE OF ALANINE RACEMASE IN TRYPANOSOMA AND ANTIPARISITIC EFFECT OF NEW CLASS OF ALANINE RACEMASE INHIBITORS 41

Richard MBM Girard⁽¹⁾, *Lisvane Paes*⁽²⁾, *Pereira, C.A*⁽³⁾, *Marcelo Santos da Silva*⁽⁴⁾, *Raphael Pavan*⁽⁵⁾, *Maria Carolina Elias*⁽⁶⁾, *Ariel Mariano Silber*⁽⁷⁾

24 - CARACTERIZACIÓN DE REGIONES NO TRADUCIDAS EN FAMILIAS PROTEICAS QUE PRESENTAN DIFERENCIAS EN LA EFICIENCIA TRADUCCIONAL EN *Trypanosoma cruzi* 42

Santiago Radío⁽¹⁾, *Lorena Becco*⁽²⁾, *José Sotelo*⁽³⁾, *Beatriz Garat*⁽⁴⁾, *Pablo Smircich*⁽⁵⁾

25 - ROLE OF INTRACELLULAR cAMP IN OXIDATIVE STRESS RESPONSES THROUGH *Trypanosoma cruzi* LIFE CYCLE..... 42

Tamara Sternlieb, *Alejandra C. Schoijet*, *Patricio Genta*, *Salomé Vilchez Larrea*, *Guillermo D. Alonso*

26 - TFVPS32 REGULA LA DIVISIÓN CELULAR EN EL PARÁSITO *Trichomonas foetus*..... 43

Lucrecia S Iriarte, *Natalia De Miguel*, *Verónica M Coceres*

27 - EXOSOMAS DE T.CRUZI AUMENTAN LA CARGA DNA PARASITARIO Y DAÑO TISULAR EN EXPLANTES DE VELLOSIDADES CORIÓNICAS PLACENTARIAS HUMANAS INFECTADAS EX VIVO 43

Ileana VV Carrillo Wener⁽¹⁾, Christian Castillo⁽²⁾, Ana Liempi⁽³⁾, Lisvaneth Medina⁽⁴⁾, Alejandra Navarrete⁽⁵⁾, Patricio López⁽⁶⁾, Norbel Galanti⁽⁷⁾, Antonio Osuna⁽⁸⁾, Ulrike Kemmerling⁽⁹⁾

28-IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AMP-ACTIVATED PROTEIN KINASE IN *Trypanosoma cruzi*..... 44

Tamara Sternlieb, Patricio Genta, Alejandra C. Schoijet, Guillermo D. Alonso

29 - ESTUDIO DEL ROL DE LAS CISTEÍNAS EN LA OLIGOMERIZACIÓN Y FUNCIONALIDAD DE LA PROTEÍNA TRIPARREDOXINA PEROXIDASA CITOSÓLICA DE *Trypanosoma cruzi*..... 44

María Dolores Piñeyro⁽¹⁾, Adriana Parodi-Talice⁽²⁾, Diego Arias⁽³⁾, Lucia Lopez⁽⁴⁾, Carlos Robello⁽⁵⁾

30 - EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS ANTIOXIDANTES EN AISLAMIENTOS DE TRYPANOSOMA CRUZI TCV CON DIFERENTE SUSCEPTIBILIDAD AL BENZNIDAZOL 45

Luz Piedad Quebrada Palacio⁽¹⁾, Adriana Parodi Talice⁽²⁾, Yolanda Hernandez Vasquez⁽³⁾, Miriam Postan⁽⁴⁾

31 - EL SILENCIAMIENTO DE TBRRM1 PRODUCE FENOTIPOS ANORMALES Y MUERTE CELULAR EN EL ESTADIO SANGUÍNEO DE TRYPANOSOMA BRUCEI . 46

Analía G Níttolo, Carolina P Bañuelos, Daniel O Sánchez, Gabriela V Levy

32 - EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE WEE1 DE TRYPANOSOMA BRUCEI EN LEISHMANIA TARENTOLAE 46

33 - LA INVASIÓN POR *Trypanosoma cruzi*, EN CARDIOMIOCITOS HL-1, GENERA ESTRÉS OXIDATIVO Y ACTIVACIÓN DEL METABOLISMO DE POLÍMEROS DE ADP-RIBOSA 47

María L Kevorkian, Salomé C Vilchez Larrea, Silvia H Fernández Villamil

34 - EFECTO DE LA INFECCION EX VIVO DE T. CRUZI Y T. GONDII EN EXPLANTES DE PLACENTA PLACENTA HUMANA, CANINA Y OVINA..... 47

Ana Liempi⁽¹⁾, Christian Castillo⁽²⁾, Daniel Droguett⁽³⁾, Ileana Carrillo⁽⁴⁾, Javier Astudillo⁽⁵⁾, Rhonda Veas⁽⁶⁾, Lisvaneth Medina⁽⁷⁾, Norbel Galanti⁽⁸⁾, Ulrike Kemmerling⁽⁹⁾

35 - ANALISIS DE LA VARIABILIDAD GENETICA DE SECUENCIAS DE ADN SATELITE DE *Trypanosoma cruzi* 48

Juan C Ramirez⁽¹⁾, Carolina Torres⁽²⁾, María de los A Curto⁽³⁾, Alejandro G Schijman⁽⁴⁾

36 - EVIDENCIAS DE LA EXPRESIÓN DE LA ENZIMA DIHIDROXIACETONA QUINASA (DAK) EN *Trypanosoma cruzi*..... 49

Patricia Andrea Garavaglia⁽¹⁾, Laura M. Tasso⁽²⁾, Guillermo Eastman⁽³⁾, José R. Sotelo-Silveira⁽⁴⁾, Gabriela A. Garcia⁽⁵⁾, Joaquín J.B. Cannata⁽⁶⁾

37 - CARACTERIZACION MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE *Trypanosoma cruzi* DE PACIENTES EN ENSAYOS CLINICOS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS 49

Juan C Ramirez⁽¹⁾, Mary C Torrico⁽²⁾, Priscilla A da Costa⁽³⁾, Soraia de O Silva⁽⁴⁾, Alejandro F Benatar⁽⁵⁾, Anabelle de la Barra⁽⁶⁾, Rudy Parrado⁽⁷⁾, Lineth García⁽⁸⁾, Faustino Torrico⁽⁹⁾, Andrea M Macedo⁽¹⁰⁾, Isabela Ribeiro⁽¹¹⁾, Alejandro G Schijman⁽¹²⁾.....

38 - IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL PRIMER TRANSPORTADOR DE PANTOTENATO (TcPPT1) EN *Trypanosoma cruzi*..... 50

Laura Fraccaroli, M Daniela Ruiz, Darío E Balcazar, Luciana Larocca, Fabiana Stolowicz, Pablo S Torres, Carolina Carrillo

39 - Identification of new Cruzipain inhibitory scaffolds from the GlaxoSmithKline HAT and CHAGAS chemical boxes 51

Emir Salas Sarduy, Lionel Urán Landaburu, Juan José Cazzulo, Fernán Agüero, Vanina E Alvarez

40 - Identification of M32 peptidase inhibitors in new compound sets with anti-kinetoplastid activity 51

Gabriela T Niemirowicz, Juan José Cazzulo, Fernán Agüero, Vanina E Alvarez

41 - VARIABILIDAD GENÉTICA DE STRONGYLOIDES STERCORALIS Y SU RELACIÓN CON LA REACTIVACIÓN PARASITARIA..... 52

Lisana Arguello⁽¹⁾, Estela Batalla⁽²⁾, Burgos Juan⁽³⁾, Catalina Alba soto⁽⁴⁾, Stella Maris Gonzalez Cappa⁽⁵⁾, Silvia Repetto⁽⁶⁾, Paula Ruybal⁽⁷⁾

42 - EXPRESIÓN, LOCALIZACIÓN Y PERFIL ANTIGÉNICO DE PROTEÍNAS TOLT DE *Trypanosoma cruzi*..... 53

Maite M Lobo, Virginia Balouz, Luciano J Melli, Gaspar E Cánepa, Santiago Carmona, Andrés Ciochini , Fernán Agüero, Carlos A Buscaglia

43 - ANALISIS GENÉTICO DE LA RESISTENCIA AL INSECTICIDA DELTAMETRINA DE TRIATOMA INFESTANS DE ARGENTINA Y BOLIVIA..... 53

Gonzalo Roca Acevedo, Georgina Fronza, Maria Inés Picollo, Ariel Ceferino Toloza

44 - LA SOBREEXPRESIÓN DEL FACTOR NUCLEAR TCHMGB EN T. CRUZI POSEE UN EFECTO DELETÉREO EN LA REPLICACIÓN E INVASIÓN CELULAR . 54

Luis E Tavernelli, Esteban C Serra, Pamela Cribb

45 - CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE UNA NUEVA ESPECIE DEL GÉNERO TRYPANOSOMA AISLADA DE MAMÍFEROS SILVESTRES DE SANTIAGO DEL ESTERO 54

Nicolas Tomasini, Paula G Ragone, Cecilia Perez Brandan, Patricio Diosque

46 - TRÁFICO INTRACELULAR DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA A TRAVÉS DE LA VACUOLA CONTRÁCTIL EN *Trypanosoma cruzi* 55

Giannina Carlevaro, Juan Burgos, Oscar Campetella, Juan Mucci

47 - ANÁLISIS DE MUTACIONES DE TIPO Kdr EN TRIATOMA INFESTANS (REDUVIIDAE: TRIATOMINAE) RESISTENTES A DELTAMETRINA DEL GRAN CHACO ARGENTINO 56

Georgina Fronza⁽¹⁾, Gonzalo Roca Acevedo⁽²⁾, Gastón A Mougabure Cueto⁽³⁾, María I Picollo⁽⁴⁾, Ariel C Toloza⁽⁵⁾

48 - AURORA QUINASAS DE *Trypanosoma cruzi*: ESTUDIO DE SUMOILACIÓN UTILIZANDO EL SISTEMA ENZIMÁTICO DE T. BRUCEI EXPRESADO EN E. COLI 56

Nadia M Barrera⁽¹⁾, María J Figueras Lopez⁽²⁾, Matías Fassolari⁽³⁾, Paula Iribarren⁽⁴⁾, Vanina E Alvarez⁽⁵⁾, Guillermo D Alonso⁽⁶⁾

49 - CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE UNA GLUTARREDOXINA MONOTIÓLICA DE *Trypanosoma cruzi*..... 57

Natalia Sasoni⁽¹⁾, Vanina E Márquez⁽²⁾, Alberto A Iglesias⁽³⁾, Sergio A Guerrero⁽⁴⁾, Diego G Arias⁽⁵⁾

50 - CLONACIÓN Y SOBREEXPRESIÓN DE LAS PROHIBITINAS 1 Y 2 DE *Trypanosoma cruzi* 57

Ana Karina Ibarrola Vannucci⁽¹⁾, Susana Vilchez Tornero⁽²⁾, María de los Ángeles Curto⁽³⁾, Alejandro Gabriel Schijman⁽⁴⁾, Antonio Osuna Carrillo de Albornoz⁽⁵⁾

51 - EXPRESION DE LA FAMILIA TCTASV DE T. CRUZI : MINERIA DE DATOS DE EXPRESION Y CORRELACION CON DATOS EXPERIMENTALES 58

Mariana Rizzi, Matias Rodriguez, Lucas Cairo, Daniel Sanchez, Valeria Tekiel

52 - Secreción de la TcCyP19 del *Trypanosoma cruzi* y su posible rol en la infección..... 59

Alina E Perrone⁽¹⁾, Bustos PL⁽²⁾, Milduberg N⁽³⁾, Búa J⁽⁴⁾

53 - POLY(ADP-RIBOSA) POLIMERASA DE TRYPANOSOMA BRUCEI ES SELECTIVAMENTE ACTIVADA POR ADN 59

Mariana Schlesinger⁽¹⁾, Teemu Haikarainen⁽²⁾, Ezeogo Obaji⁽³⁾, Lari Lethio⁽⁴⁾, Silvia Fernandez Villamil⁽⁵⁾

54 - EFECTOS DE LA SOBREEXPRESIÓN DE LA TRIPANOTIÓN SINTETASA PARA *Trypanosoma cruzi* 60

Andrea C Mesias⁽¹⁾, María D Piñeyro⁽²⁾, Carlos Robello⁽³⁾, María P Zago⁽⁴⁾

55 - RESPUESTA METABÓLICA FRENTE A HORMONAS ANTAGÓNICAS DEL HOSPEDADOR EN EL ESTADIO LARVARIO DE ECHINOCOCCUS GRANULOSUS 61

Perla S Negro⁽¹⁾, Julia A Loos⁽²⁾, Valeria A Dávila⁽³⁾, Andrea C Cumino⁽⁴⁾

56 - ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE CEPAS RESISTENTES DE FASCIOLA HEPÁTICA 61

Pablo Smircich⁽¹⁾, Santiago Radío⁽²⁾, Victoria Solana⁽³⁾, Valeria Gayo⁽⁴⁾, Pedro Ortiz⁽⁵⁾, Hugo Solana⁽⁶⁾, José Tort⁽⁷⁾

57 - TcTSSA un proteína de tipo mucina de *T. cruzi* involucrada en la invasión de la célula huésped 62

Maria Camara, Virginia Balouz, Gaspar Canepa, Andres Llantos, Juan Mucci, Fernan Agüero, Carlos Buscaglia

58 - ENDONUCLEASAS APURÍNICAS/APIRIMIDÍNICAS (AP) DE LA VÍA BER Y SU PARTICIPACIÓN SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y VIABILIDAD DE *Trypanosoma cruzi* 62

Lucía Valenzuela, Iván Ponce, Sofía Sepúlveda, Norbel Galanti y Gonzalo Cabrera.

59 - BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF AN ACYL-COA DEHYDROGENASE FROM *Trypanosoma cruzi* 63

SOUZA, RODOLPHO; MANCHOLA, NC; RAPADO, LN; SILBER, AM.

DIAGNOSTICO y TRATAMIENTO

60 - ENSAYO DE INMUNOAGLUTINACIÓN VISUAL COMO MÉTODO DE SCREENING PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIASIS VISCERAL EN CANINOS 63

Valeria S Garcia⁽¹⁾, Veronica DG Gonzalez⁽²⁾, Luis M Gugliotta⁽³⁾, Diego Arias⁽⁴⁾, Matias Cabeza⁽⁵⁾, Sergio A Guerrero⁽⁶⁾

61 - Reposicionamiento de fármacos asistido por computadora orientado a la búsqueda de inhibidores de la N-miristoil transferasa 64

Lucas Nicolás Alberca⁽¹⁾, Juan Francisco Morales⁽²⁾, Andrés Alonso⁽³⁾, María Corvi⁽⁴⁾, Alan Talevi⁽⁵⁾

62 - *Acanthamoeba* spp. EN AGUA PARA CONSUMO GANADERO EN LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA 65

María del C Rojas⁽¹⁾, María del C. Rojas⁽²⁾, Marcelo Rodríguez Fermepín⁽³⁾, Sixto R Costamagna⁽⁴⁾

63 - Regiones abreviadas de P35 y P22 del *Toxoplasma gondii* para diagnosticar toxoplasmosis aguda durante el embarazo 65

Juan G Costa⁽¹⁾, Leandro E Peretti⁽²⁾, Valeria S García⁽³⁾, Luz Peverengo⁽⁴⁾, Verónica DG González⁽⁵⁾, Luis M Gugliotta⁽⁶⁾, María L Dalla Fontana⁽⁷⁾, Claudia M Lagier⁽⁸⁾, Iván S Marcipar⁽⁹⁾

64 - A comparison of Ritchie and FLOTAC pellet techniques for the diagnosis of helminths in schoolchildren of Clorinda (Formosa province, Argentina)..... 66

Paola Cociancic⁽¹⁾, María L Zonta⁽²⁾, Davide Ianniello⁽³⁾, Graciela T Navone⁽⁴⁾, Laura Rinaldi⁽⁵⁾, Giuseppe Cringoli⁽⁶⁾

65 - EFECTO DEL TRATAMIENTO CON BAJAS DOSIS DE BENZNIDAZOL EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CRÓNICA CON *Trypanosoma cruzi* NICARAGUA Y SYLVIO X10/4..... 67

Marcela S Rial⁽¹⁾, Yesica M Nana⁽²⁾, Mónica I Esteva⁽³⁾, María L Scalise⁽⁴⁾, Micaela Lopez Alarcón⁽⁵⁾, Adelina R Riarte⁽⁶⁾, Laura E Fichera⁽⁷⁾

66 - TRATAMIENTO CON NANOPARTÍCULAS DE BENZNIDAZOL EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL MURINA POR *Trypanosoma cruzi* NICARAGUA..... 67

Marcela S Rial⁽¹⁾, María L Scalise⁽²⁾, Eva C Arrúa⁽³⁾, Mónica I Esteva⁽⁴⁾, Claudio J Salomón⁽⁵⁾, Laura E Fichera⁽⁶⁾

67 - REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR COMPUTADORA ENFOCADO A LA BÚSQUEDA DE NUEVOS TRIPANOCIDAS INHIBIDORES DE LA TRIPANOTIÓN SINTETASA 68

Alice Juan I⁽¹⁾, Morales Juan F⁽²⁾, Bellera Carolina L⁽³⁾, Talevi Alan⁽⁴⁾

68 - ANÁLISIS INTEGRAL DE UN BROTE DE TRICHINELLOSIS EN EL SUDOESTE BONAERENSE, ARGENTINA..... 69

Viviana R Randazzo⁽¹⁾, German Zurita⁽²⁾, Leandro Lucchi⁽³⁾, Luciano La Sala⁽⁴⁾, Cecilia Martínez⁽⁵⁾, Sixto R Costamagna⁽⁶⁾

69 -NUEVA HERRAMIENTA DE AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA (LAMP) PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA POR *Trypanosoma cruzi* 70

Rocío Rivero⁽¹⁾, Margarita Bisio⁽²⁾, Elsa Velázquez⁽³⁾, Mónica Inés Esteva⁽⁴⁾, Nicolás Gonzalez⁽⁵⁾, Jaime Altcheh⁽⁶⁾, Andrés Mariano Ruiz⁽⁷⁾

70 - REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS MEDIANTE REDES FÁRMACO-PROTEÍNA..... 70

Carolina L Bellera, Alan Talevi

71 - EFICACIA DE LA METFORMINA CONTRA LA ECHINOCOCCOSIS QUÍSTICA EXPERIMENTAL..... 71

Julia A Loos⁽¹⁾, Valeria A Dávila⁽²⁾, Judith Márquez⁽³⁾, Andrea C Cumino⁽⁴⁾

72 - TIOSEMICARBAZONAS DERIVADAS DE 1-INDANONAS N4-ARILSUSTITUIDAS: ACCIÓN FRENTE A TRYPANOSOMA BRUCEI Y RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD 71

María Cristina Soraires Santacruz⁽¹⁾, Octavio Fusco⁽²⁾, Liliana M Finkielsztein⁽³⁾, Esteban J Bontempi⁽⁴⁾

73 - ANÁLISIS DE NUEVOS COMPUESTOS ORGANOMETÁLICOS COMO POTENCIALES AGENTES CONTRA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS..... 72

Florencia Mosquillo⁽¹⁾, Dinorah Gambino⁽²⁾, Leticia Pérez-Díaz⁽³⁾

74 - ENTEROPARASITOSIS EN POBLACIÓN INFANTO-JUVENIL DEL PARTIDO DE LA PLATA: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE DOS TÉCNICAS DE ENRIQUECIMIENTO COPROPASITOLÓGICAS *Andrea C Falcone⁽¹⁾, Paola Cociancic⁽²⁾, María M Zarza⁽³⁾, María L Zonta⁽⁴⁾, Graciela T Navone⁽⁵⁾*

75 - Estudio del efecto de co-administración de Clofazimina y Benidipina con Benznidazol en un modelo murino de Chagas crónico 73

María L Sbaraglini⁽¹⁾, Yésica Areco⁽²⁾, Cristian Miranda⁽³⁾, Carolina L Bellera⁽⁴⁾, Carolina Carrillo⁽⁵⁾, Bruno Buchholz⁽⁶⁾, Jazmín Kelly⁽⁷⁾, Ricardo Gelpi⁽⁸⁾, Alan Talevi⁽⁹⁾, Catalina D Alba Soto⁽¹⁰⁾

76 - Efecto in vivo e in vitro del Triclabendazol y la Paroxetina sobre *T. cruzi* 74

María L Sbaraglini⁽¹⁾, Lucas N Alberca⁽²⁾, Carolina Carrillo⁽³⁾, Catalina D Alba Soto⁽⁴⁾, Alan Talevi⁽⁵⁾

77 - EFECTO ANTIPARASÍTICO DE LA VITAMINA C SOBRE *Trypanosoma cruzi* . 75

Puente, Vanesa R (1); Demaria, María A. (1); Battle, Alcira (1); Frank, Fernanda M. (2); Dra. Lombardo, Elisa (1)

78 - Benznidazol a bajas dosis y Fenofibrato restauran parámetros inflamatorios y de la función cardíaca en un modelo crónico de Chagas experimental. 75

Agata Carolina Cevey⁽¹⁾, Martín Donato⁽²⁾, Federico N Penas⁽³⁾, Jimena Rada⁽⁴⁾, Diamela Paez⁽⁵⁾, Ricardo J Gelpi⁽⁶⁾, Gerardo A Mirkin⁽⁷⁾, Nora B Goren⁽⁸⁾

79 - EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE MICROALGAS COMO POTENCIALES DROGAS TRIPANOCIDAS NATURALES..... 76

Rhonda Veas⁽¹⁾, Ana Liempi⁽²⁾, Ileana Carrillo⁽³⁾, Christian Castillo⁽⁴⁾, Lisvaneth Medina⁽⁵⁾, Juan Diego Maya⁽⁶⁾, Norbel Galanti⁽⁷⁾, Veronica Rojas⁽⁸⁾, Ulrike Kemmerling⁽⁹⁾

80 - EVALUACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS HLF1-11 Y P113 SOBRE LEISHMANIA BRAZILIENSIS..... 77

Agustina Casasco, Bruno F Alliani, María B Palma, Fernanda M Frank, Patricia B Petray

81 - CARACTERIZACIÓN ANTIGÉNICA DE LAS PROTEÍNAS MASP_s DE *Trypanosoma cruzi*..... 77

Pablo E La Spina, Ignacio M Durante, Santiago J Carmona, Fernán Agüero, Carlos A Buscaglia

82 - EVALUACIÓN DE UNA NUEVA PROTEÍNA RECOMBINANTE QUIMÉRICA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS MEDIANTE INMUNOAGLUTINACION..... 78

Luz M Peverengo⁽¹⁾, Valeria Garcia⁽²⁾, Luz Rodeles⁽³⁾, Miguel Vicco⁽⁴⁾, Estefania Prochetto⁽⁵⁾, Iván Bontempi⁽⁶⁾, Gabriel Cabrera⁽⁷⁾, Verónica Gonzalez⁽⁸⁾, Iván Marcipar⁽⁹⁾, Luis Gugliotta⁽¹⁰⁾

E-mail: luzpeverengo@gmail.com

83 - ACTUALIZACIONES A LA BASE DE DATOS QUIMIOGENÓMICA TDR TARGETS..... 78

Lionel Urán Landaburu, Fernán Agüero

84 - Development of a bioinformatic pipeline for genome-wide prioritization of serological diagnostic markers in pathogens 79

Mauricio Brunner⁽¹⁾, Diego Ramoa⁽²⁾, Santiago J Carmona⁽³⁾, Fernan Aguero⁽⁴⁾

85 - PCR EN TIEMPO REAL COMO HERRAMIENTA DE DIAGNOSTICO TEMPRANO PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CONGENITA: UN ESTUDIO PROSPECTIVO OBSERVACIONAL..... 80

Margarita María Catalina Bisio, Kessler, Camila, González, Nicolas, Moroni, Samanta, Moscatelli Guillermo, Ballering, Griselda, Altcheh, Jaime

86 - DISEÑO Y SÍNTESIS DE ANALÓGOS QUINOLÍNICOS A PARTIR DE UN COMPUESTO LÍDER COMO NUEVOS AGENTES TRIPANOCIDAS 80

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, Graciela Y Buldain⁽³⁾, Fernanda M Frank⁽⁴⁾, Silvia E Asis⁽⁵⁾

87 - TRYPANOSOMA BRUCEI BRUCEI: NAGANA CURED BY INTRANASALLY ADMINISTERED DIMINAZENE ACETURATE (BERENIL). PRELIMINARY RESULTS 81

Octavio Fusco

88 - ELISA-FRA: EVALUACIÓN POST-TRATAMIENTO EN ADULTOS INFECTADOS CRÓNICOS POR *Trypanosoma cruzi*..... 81

María Laura Bizai⁽¹⁾, Lorena Verónica Olivera⁽²⁾, Edith Ferli⁽³⁾, Evelin Arias⁽⁴⁾, Santiago Suasnabar⁽⁵⁾, Susana Denner⁽⁶⁾, Iván Marcipar⁽⁷⁾, Diana Fabbro⁽⁸⁾

89 - EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTI *Trypanosoma cruzi* DE VERNONIA SCORPIOIDES (ASTERACEAE), UNA ESPECIE VEGETAL ARGENTINA 82

Jeronimo Ulloa⁽¹⁾, Flavia Redko⁽²⁾, Julia Di Paula⁽³⁾, Paula Men⁽⁴⁾, María Belén Palma⁽⁵⁾, Fernanda Frank⁽⁶⁾, Liliana Muschietti⁽⁷⁾

90 - EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO AL ANTIMONIATO DE MEGLUMINA DE PARÁSITOS DE *Leishmania* sp. OBTENIDOS DE PACIENTES DE SALTA 83

Ana G González Prieto⁽¹⁾, María F García Bustos⁽²⁾, Federico Ramos⁽³⁾, María C Mora⁽⁴⁾, Sibila Monroig⁽⁵⁾, Sonia Moreno⁽⁶⁾, MR Morales de Díaz⁽⁷⁾, Alejandra Barrio⁽⁸⁾

91 - FRECUENCIA DE ENTEROPARASITOSIS Y BÚSQUEDA DE *Schistosoma mansoni* EN LA PROVINCIA DE CORRIENTES 83

Cristina M Gené, María JF Rea, Adriana Inés Fleitas, C Edgardo Borda

92 - ACTIVIDAD TRIPANOCIDA SOBRE *Trypanosoma cruzi* DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS AISLADAS DE ESPECIES DEL GÉNERO *SMALLANTHUS* . 84

Jeronimo Ulloa⁽¹⁾, Flavia Redko⁽²⁾, Keyna Urbano⁽³⁾, Fernanda Frank⁽⁴⁾, Liliana Muschietti⁽⁵⁾

93 - Comparative characterizatón of B-cell responses of Chronic and Congenital Chagas Disease using high-density peptide chips 85

Leonel E Bracco⁽¹⁾, Juan S Mucci⁽²⁾, Jaime Altcheh⁽³⁾, Carlos A Buscaglia⁽⁴⁾, Fernán Agüero⁽⁵⁾

94 - ESTUDIO DE DERIVADOS SINTÉTICOS DEL ALCALOIDE INDÓLICO TETRAHIDRO- β -CARBOLINA PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS Y LEISHMANIASIS 85

Agustina Casasco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, María B Palma⁽³⁾, Keeyna Z Urbano⁽⁴⁾, Patricia B Petray⁽⁵⁾, Fernanda M Frank⁽⁶⁾

95 - EVALUACION BIOLOGICA DE NUEVAS MOLECULAS ACTIVAS COMO POTENCIALES DROGAS TRIPANOCIDAS..... 86

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, Graciela Y Buldain⁽³⁾, Silvia E Asís⁽⁴⁾, Fernanda M Frank⁽⁵⁾

96 - EVALUATION OF A KIT FOR MOLECULAR DETECTION OF *Trypanosoma cruzi* DNA BASED ON LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP) 86

Susana Alicia Besuschio⁽¹⁾, Alberto Picado de Puig⁽²⁾, Mónica Llano Murcia⁽³⁾, Alejandro Benatar⁽⁴⁾, María de los Angeles Curto⁽⁵⁾, Israel Cruz Mata⁽⁶⁾, Concepción Puerta⁽⁷⁾, Joseph Ndung'u⁽⁸⁾, Alejandro G. Schijman⁽⁹⁾

97 - ESTUDIOS DE SINERGISMO Y DETERMINACION DEL MECANISMO DE ACCION DE DROGAS ACTIVAS FRENTE A *Trypanosoma cruzi*..... 87

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, Graciela Y Buldain⁽³⁾, Silvia E Asís⁽⁴⁾, Fernanda M Frank⁽⁵⁾

98 - ACTIVIDAD BIOLOGICA SOBRE *Trypanosoma cruzi* Y LEISHMANIA SPP DE DERIVADOS SINTETICOS DE 2-FENILQUINOLINAS 88

Federico J Roldán Pacheco⁽¹⁾, Gisela C Muscia⁽²⁾, María B Palma⁽³⁾, Graciela Y Buldain⁽⁴⁾, Silvia E Asís⁽⁵⁾, Fernanda M Frank⁽⁶⁾

99 - EL DESEMPEÑO DE DIFERENTES METODOS DE PCRS EN EL DIAGNOSTICO DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA..... 88

Carlos Lorenzo Hoyos⁽¹⁾, Uncos, Alejandro⁽²⁾, Cajal Silvana P⁽³⁾, Caro, Nicolás⁽⁴⁾, Juárez, Marisa⁽⁵⁾, Almazán, Cristina⁽⁶⁾, Bracamonte, Estefanía⁽⁷⁾, Moya Alvarez, Agustín⁽⁸⁾, Gil, José Fernando⁽⁹⁾, Nasser, Julio R⁽¹⁰⁾, Krolewiecki Alejandro⁽¹¹⁾, Marco, Jorge.D⁽¹²⁾

EPIDEMIOLOGÍA Y VECTORES

100 - EVOLUCIÓN DE PRUEBAS SEROLÓGICAS Y PARASITOLÓGICAS LUEGO DEL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR *T. cruzi*: UN META-ANÁLISIS DE DATOS DE PARTICIPANTES INDIVIDUALES 89

(1) Yanina Sguassero, (2) Karen N Roberts, (3) Guillermina B Harvey, (4) Agustín Ciapponi, (5) Cristina B Cuesta, (6) Daniel Comandé, (7) Sergio Sosa-Estani.

101 - ALTA PREVALENCIA DE TOXOCARIOSIS HUMANA EN ÁREAS RURALES DEL NORTE DE CORRIENTES..... 90

María de los Angeles López⁽¹⁾, María Josefina Cenoz Coni⁽²⁾, María Viviana Bojanich⁽³⁾, Gustavo J Fernández⁽⁴⁾, Sivia E Balbachan⁽⁵⁾

102 - PRESENCIA DE TRIATOMA INFESTANS Y SU ASOCIACIÓN CON FACTORES SOCIO-BIO-ECOLÓGICOS EN UN ÁREA RURAL DE LA PROVINCIA DE MENDOZA, ARGENTINA..... 90

Ana L Carbajal de la Fuente⁽¹⁾, Yael Provecho⁽²⁾, María P Fernández⁽³⁾, Marta V Cardinal⁽⁴⁾, Patricia Lencia⁽⁵⁾, Cynthia Spillmann⁽⁶⁾, Ricardo E Gürtler⁽⁷⁾

103 - ASIMETRIA FLUCTUANTE EN ALAS DE *Triatoma infestans* (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) ASOCIADA A INSECTICIDAS PIRETROIDES..... 91

Julieta Nattero, Ricardo E. Gürtler

104 - INFERENCIAS FILOGEOGRÁFICAS DEL VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS TRIATOMA INFESTANS A PARTIR DE DOS TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES 92

Cintia J Fernández, Beatriz A García

105 - ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN POBLACIONES SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES DE TRIATOMA INFESTANS 92

Carla G Grosso, María M Stroppa, Beatriz A García

106 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN RELOJ PERIOD Y ANÁLISIS DE SU EXPRESIÓN EN TRIATOMA INFESTANS 93

María M Stroppa, Ignacio Gimenez, Carlota S Carriazo, Nelia M Gerez de Burgos, Beatriz A García

107 - ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES DE TRIATOMA INFESTANS EN LAS ECORREGIONES DEL GRAN CHACO Y EL MONTE 94

Romina V Piccinali⁽¹⁾, Ana L Carbajal de la Fuente⁽²⁾, Ricardo E Gürtler⁽³⁾

108 - PATRÓN DE EXCRECIÓN/DEFECACIÓN EN TRIATOMA INFESTANS SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES A DELTAMETRINA 94

Patricia Lobbia⁽¹⁾, Carolina Remón⁽²⁾, Gastón Mougabure-Cueto⁽³⁾

109 - DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE TRATADA PARA EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN TRIATOMA INFESTANS. 95

Carolina Remón⁽¹⁾, Patricia Lobbia⁽²⁾, Gastón Mougabure-Cueto⁽³⁾

110 - USO DE MEDIDAS LINEALES DE LA CABEZA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL SUBCOMPLEJO SORDIDA (HEMIPTERA: REDUVIDAE) 96

Julieta Nattero⁽¹⁾, Romina V. Piccinali⁽²⁾, Catarina Macedo Lopes⁽³⁾, María Laura Hernández⁽⁴⁾, Luciana Abrahan⁽⁵⁾, Patricia A. Lobbia⁽⁶⁾, Claudia S. Rodríguez⁽⁷⁾, Ana Laura Carbajal de la Fuente⁽⁸⁾

111 - IMPLEMENTACION DE LOS MARCADORES MOLECULARES ISSR EN EL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL A ESCALA GEOGRAFICA FINA EN TRIATOMA INFESTANS 96

Alicia R Pérez de Rosas, María F Restelli, Beatriz A García

112 - EPIDEMIOLOGIA DE LA TOXOPLASMOSIS EN LA CIUDAD DE CHASCOMÚS. 97

Rivera Maximiliano⁽¹⁾, Sánchez Paola⁽²⁾, Sullings Analía⁽³⁾, Díaz Valeria⁽⁴⁾, Salaberry María Inés⁽⁵⁾, Begoña Moja⁽⁶⁾, Giménez Sandra⁽⁷⁾, Quesada Irma⁽⁸⁾, Corbo Estela⁽⁹⁾, Ventura Marina⁽¹⁰⁾, Lavayén Silvina⁽¹¹⁾, Silva Andrea⁽¹²⁾, Clementea Marina⁽¹³⁾, Angel Sergio⁽¹⁴⁾

113 - EPIDEMIOLOGICAL MODELING OF *Trypanosoma cruzi* TRANSMISSION: REINFECTIONS IN THE CHRONIC PHASE EXPLAINS THE FREQUENCY OF MIXED INFECTIONS IN HUMANS 98

Nicolas Tomasin⁽¹⁾, Paula G Ragone⁽²⁾, Sebastien Groubire⁽³⁾, Juan P Aparicio⁽⁴⁾, Patricio Diosque⁽⁵⁾

114 - ANÁLISIS DE LA ASOCIACIÓN DE FACTORES BIOLÓGICOS Y DEMOGRÁFICOS Y LA TRANSMISIÓN CONGÉNITA DE *Trypanosoma cruzi*..... 98

Emmaría Danesi⁽¹⁾, Sergio Sosa-Estani⁽²⁾

115 - SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN DE STRONGYLOIDES STERCORALIS EN LA LOCALIDAD LA UNIÓN EN LA PROVINCIA DE SALTA 99

Pedro Emanuel Fleitas⁽¹⁾, Mariana Fernández⁽²⁾, Nicolás Caro⁽³⁾, Marisa Juárez⁽⁴⁾, Pamela Cajal⁽⁵⁾, María Canabire⁽⁶⁾, Noelia Florida⁽⁷⁾, Paola Vargas⁽⁸⁾, Ruben Oscar Cimino⁽⁹⁾

116 - BROTES EPIDEMICOS DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA (LTA) EN LA PROVINCIA DE CORRIENTES 100

María J.F. Rea, Edgardo C. Borda, Mirta L. Mierez, Adriana I. Fleitas

117 - TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE FLEBÓTOMOS DE UN ÁREA ENDÉMICA DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN LA PROVINCIA DE SALTA, MEDIANTE PCR-RFLP DEL GEN ARNR 18S 100

María C Almazán⁽¹⁾, Griselda N Copa⁽²⁾, Inés R López Quiroga⁽³⁾, Carlos L Hoyos⁽⁴⁾, José F Gil⁽⁵⁾, Jorge D Marco⁽⁶⁾, Julio R Nasser⁽⁷⁾, Paola A Barroso⁽⁸⁾ 100

118 - DIVERSIDAD Y FORMAS INMADURAS DE FLEBÓTOMOS DEL PARAJE RURAL EL CEDRAL, ÁREA ENDÉMICA PARA LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN EL NORTE DE SALTA..... 101

Griselda Noemi Copa⁽¹⁾, Cristina Almazán⁽²⁾, Carlos Hoyos⁽³⁾, Silvana Cajal⁽⁴⁾, Marisa Juárez⁽⁵⁾, Alejandro Krolewiecki⁽⁶⁾, Reynaldo Caro⁽⁷⁾, María Canabire⁽⁸⁾, Dana Villazón⁽⁹⁾, Andres Escalada⁽¹⁰⁾, Valeria Tejerina⁽¹¹⁾, Julio Nasser⁽¹²⁾, Diego Marco⁽¹³⁾, José Fernando Gil

INMUNOLOGIA Y PATOGENIA

119 - RESPUESTA GÉNICA DIFERENCIAL DEL MICROAMBIENTE PLACENTARIO EN MODELO MURINO DE INFECCIÓN CRÓNICA CON DOS CEPAS DE *Trypanosoma cruzi* 102

Natalia A Juiz

120 - MEGACOLON CHAGASICO: CASUISTICA Y ASOCIACION CON AUTOANTICUERPOS β 2-ADRENERGICOS 102

Jose I Valenzuela⁽¹⁾, Paola Noroña⁽²⁾, Maximiliano Castro⁽³⁾, Miguel Vicco⁽⁴⁾, Luz M Rodeles⁽⁵⁾

121 - ALTERACIONES METABÓLICAS EN ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA: PERFIL DE INSULINORRESISTENCIA Y AUTOANTICUERPOS β 2 ADRENÉRGICOS 103

Luz M Rodeles⁽¹⁾, Luz M Peverengo⁽²⁾, Estefania Prochetto⁽³⁾, Miguel Vicco⁽⁴⁾, Evelyn Caceres⁽⁵⁾, Maximiliano Castro⁽⁶⁾, Jose I Valenzuela⁽⁷⁾, Iván Marcipar⁽⁸⁾, Pablo Arias⁽⁹⁾.....

122 - ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE GENERADA POR UNA VACUNA BASADA EN UN FRAGMENTO DE LA TRANS-SIALIDASA DE *Trypanosoma cruzi* FORMULADA CON CAJAS LIPÍDICAS..... 104

Estefania Prochetto, Carolina Roldán, Daiana Bertona, Iván Bontempi, Miguel Vicco, Luz Rodeles, Luz Peverengo, Alexia Poato, Iván Marcipar, Gabriel Cabrera

123 - PREDICCIÓN BIOINFORMÁTICA Y VALIDACIÓN DE NUEVOS EPITOPES DE T. CRUZI RECONOCIDOS POR LINFOCITOS T DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA..... 104

Gonzalo Acevedo⁽¹⁾, Andrea Ziblat⁽²⁾, Marisa Fernandez⁽³⁾, Yolanda Hernandez⁽⁴⁾, Morten Nielsen⁽⁵⁾, Karina Gómez⁽⁶⁾

124 - RESPUESTA LINFOPROLIFERATIVA DE ESPLENOCITOS DE RATONES BALB/C NAIVE FRENTE AL ANTÍGENO TC13TUL DE T. CRUZI : FENOTIPO Y FUNCIONALIDAD DE LAS CÉLULAS..... 105

Andrea C Bruballa, Laura M Tasso, Patricia A Garavaglia, M Cecilia Albareda, Gabriela A García

125 - LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DIETARIOS DETERMINA EL GRADO DE ESPLENOMEGALIA EN RATONES CON INFECCIÓN SUBPATENTE POR *Trypanosoma cruzi*..... 106

Marina A Beladelli, María J Moreira Espinoza, Garrett M Gardner, Cintia M Díaz Luján, María F Triquell, Luciana Mezzano, Evangelina Benizio, Ricardo E Fretes, Mariana Piegari

126 - EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA CELULAR Y HUMORAL FRENTE AL TRATAMIENTO COMPLETO E INCOMPLETO CON BENZNIDAZOL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICO..... 106

Castro Eiro Melisa D.⁽¹⁾, Alvarez MG⁽²⁾, Viotti R⁽³⁾, Cooley G⁽⁴⁾, Bertocchi G⁽⁵⁾, Lococo B⁽⁶⁾, Albareda MC⁽⁷⁾, César G⁽⁸⁾, Tarleton RL⁽⁹⁾, Laucella SA⁽¹⁰⁾

127 - INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi*: ROL DE LAS CITOCINAS PRO-INFLAMATORIAS EN LA SÍNTESIS DE ESTEROIDES ADRENALES EN UN MODELO DE INFECCIÓN EXPERIMENTAL 107

Eduardo Roggero⁽¹⁾, Esdras da Silva Oliveira Barbosa⁽²⁾, Florencia Gonzales⁽³⁾, Oscar Bottasso⁽⁴⁾, Ana R Pérez⁽⁵⁾, Silvina R Villar⁽⁶⁾

128 - EVALUACIÓN DE LAS HSP90 DE PLANTAS COMO ADYUVANTE DE ANTÍGENOS VACUNALES CONTRA TOXOPLASMA GONDII 108

Edwin F Sánchez López, Romina M Albarracin, Valeria Sander, Mariana G Corigliano, Marina Clemente

129 - ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DE GALECTINA-8 DURANTE LA INFECCIÓN CON *Trypanosoma cruzi* 108

Adriano Bertelli⁽¹⁾, Pablo Ruiz Diaz⁽²⁾, Carla Pascuale⁽³⁾, Henan García Rivello⁽⁴⁾, Oscar Campetella⁽⁵⁾, Susana M Leguizaón⁽⁶⁾

130 - 15-DEOXI-DELTA12,14 PROSTAGLANDINA J2 ATENÚA LA INJURIA HEPÁTICA ASOCIADA A LA INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* 109

Federico Nicolás Penas, Ágata Cevey, Sofía Siffo, Gerardo A Mirkin, Nora B Goren.. 109

131 - RECOMBINANT TcP21 AS POTENTIAL ADJUVANT FOR *Trypanosoma cruzi* VACCINES BASED ON LIVE ATTENUATED PARASITES 110

Cecilia Perez Brandan⁽¹⁾, Andrea Mesias⁽²⁾, Thaise L Teixeira⁽³⁾, Claudio Vieira da Silva⁽⁴⁾

132 - EVALUACIÓN DEL ANTÍGENO TRIPARREDOXINA PEROXIDASA CITOSÓLICA DE *Trypanosoma cruzi* COMO CANDIDATO VACUNAL Y DE DIAGNÓSTICO PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS 110

Alexia Poato⁽¹⁾, Luz Peverengo⁽²⁾, Estefania Prochetto⁽³⁾, Gabriel Cabrera⁽⁴⁾, Sergio Guerrero⁽⁵⁾, Iván Marcipar⁽⁶⁾, Diego Arias⁽⁷⁾, Iván Bontempi⁽⁸⁾

133 - T. CRUZI : POLARIZACION DE LA RESPUESTA MACROFAGICA M1/M2 POR LIPIDOS DE AMASTIGOTES INTACTOS Y LISADOS DE DOS CEPAS DE COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO POLAR 111

Emanuel Bott, Federico N Penas, Ivanna E Carfagna, Estela M Lammel, Guadalupe Gimenez, Nora B Goren, María L Belaunzarán

134 - LEISHMANIA BRAZILIENSIS: POLARIZACIÓN DE LA RESPUESTA MACRÓFAGICA M1/M2 POR LÍPIDOS DE PROMASTIGOTES Y AMASTIGOTES INTACTOS Y LISADOS 112

Ivanna E Carfagna, Federico N Penas, Emanuel Bott, Estela M Lammel, Nora B Goren, María L Belaunzarán, Guadalupe Gimenez

135 - HIGH-DENSITY TILING PEPTIDE ARRAYS COVERING THE COMPLETE *Trypanosoma cruzi* PROTEOME FOR THE IDENTIFICATION OF NEW CHAGAS DISEASE ANTIGENS AND EPITOPES 112

Leonel Esteban Bracco, Santiago J Carmona, Fernán Agüero

136 - ESTUDIO DEL ROL DE LA CICLOFILINA D DEL HOSPEDADOR MAMÍFERO EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *Trypanosoma cruzi* 113

Patricia L Bustos⁽¹⁾, Natalia A Milduberg⁽²⁾, Alina E Perrone⁽³⁾, Luz Piedad Quebrada Palacio⁽⁴⁾, Miriam Postan⁽⁵⁾, Jacqueline Bua⁽⁶⁾

137 - POLIMORFISMOS DEL NR3C1 EN EL DESEQUILIBRIO INMUNOENDÓCRINO ¿POSIBLES MARCADORES PREDICTIVOS DE CARDIOPATÍA CHAGÁSICA?..... 113

Antonela Simonetto⁽¹⁾, Mariana Baroni⁽²⁾, María L Bizaí⁽³⁾, Verónica Olivera⁽⁴⁾, Elena Ross⁽⁵⁾, María I Chierichetti⁽⁶⁾, Evelyn Arias⁽⁷⁾, Oscar Bottasso⁽⁸⁾, Diana Fabbro⁽⁹⁾, Cristina Diez⁽¹⁰⁾

138 - ANTICUERPOS ESPECÍFICOS CONTRA ARGININA QUINASA DE *Trypanosoma cruzi* EN SUEROS DE PACIENTES: LA PRESENCIA DE IGE SEÑALA POSIBLE ROL INMUNO-MODULADOR..... 114

Edward A Valera-Vera⁽¹⁾, Juan L Concepción⁽²⁾, Ana J Cáceres⁽³⁾, Chantal Reigada⁽⁴⁾, Melisa M-Sayé⁽⁵⁾, Fabio DiGirolamo⁽⁶⁾, Mariana R Miranda⁽⁷⁾, Claudio A Pereira⁽⁸⁾

139 - NIVELES SÉRICOS DE INTERLEUQUINAS (IL-6 E IL-10) Y PROTEÍNA C REACTIVA (CRP) EN INFECTADOS CHAGÁSICOS CRÓNICOS CON Y SIN CARDIOPATÍA..... 115

Antonela Simonetto⁽¹⁾, Mariana Baroni⁽²⁾, Verónica Olivera⁽³⁾, María L Bizaí⁽⁴⁾, Gloria Gallegos⁽⁵⁾, Evelyn Arias⁽⁶⁾, Diana Fabbro⁽⁷⁾, Cristina Diez⁽⁸⁾

140 - INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN PLACENTAS HUMANAS IN VITRO EX VIVO INDUCE LA PRODUCCIÓN DE MIF, MMP-9 Y TNF α 115

Evangelina Benizio⁽¹⁾, María Fernanda Triquell⁽²⁾, María J Moreira-Espinoza⁽³⁾, Marianela Vara-Messler⁽⁴⁾, Luciana Mezzano⁽⁵⁾, Mariana Piegari⁽⁶⁾, Ricardo Corral⁽⁷⁾, Ricardo Fretes⁽⁸⁾, Cintia M Díaz-Luján⁽⁹⁾

141 - SHIFT IN THE HUMORAL RESPONSE ELICITED BY *Trypanosoma cruzi* ATTENUATED PARASITES WHEN COADMINISTERED WITH A PLASMID ENCODING MURINE IFN-GAMMA..... 116

Cecilia Perez Brandan⁽¹⁾, Andrea Mesias⁽²⁾, Rubén Cimino⁽³⁾, Patricio Diosque⁽⁴⁾, Miguel Ángel Basombrío⁽⁵⁾

142 - LA INFECCIÓN CON NEOSPORA CANINUM PROVOCA UN DESBALANCE OXIDATIVO E INFLAMATORIO EN LA PLACENTA EN UN MODELO MURINO DE NEOSPOROSIS CONGENITA. 117

VALERIA SANDER, EDWIN SANCHEZ, ROMINA ALBARRACIN, SOFIA BENGUALUONI, MARIANA CORIGLIANO, MARINA CLEMENTE

143 - ALTERACIONES EN EL PERFIL METABÓLICO Y LOS NIVELES DE ADIPOQUINAS Y SUS RECEPTORES EN INDIVIDUOS CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA..... 117

Florencia B González⁽¹⁾, Luciano D'Attilio⁽²⁾, Susana Lioi⁽³⁾, Lorena Scaglione⁽⁴⁾, Rodolfo Leiva⁽⁵⁾, Oscar Bottasso⁽⁶⁾, Juan Beloscar⁽⁷⁾, Silvina Villar⁽⁸⁾, Ana R Pérez⁽⁹⁾

144 - ESTUDIO DE LAS ISOFORMAS INACTIVAS DE TRANS-SIALIDASA EN LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI*..... 118

Carla A Pascuale, Juan M Burgos, Andrés Lantos, Juan Mucci, Oscar Campetella, María S Leguizamón

145 - IMPACTO DE FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS EN LA TRANSMISIÓN DE CHAGAS CONGÉNITO. 119

Lorena Verónica Olivera, Santiago M Suasnabar, Maria L Bizai, Evelyn E Arias, Susana Denner, Diana L Fabbro