

# Parasitus

Revista de la Sociedad  
Argentina de Protozoología



MASCARAS, acuarela de Claudia Nose  
<https://claudianose.wixsite.com/claudia>

# *PARASITUS*

## *Revista de la Sociedad Argentina de Protozoología*

### **SECRETARIOS DE REDACCIÓN**

Silvia A. Longhi

Juan José Lauthier

### **COMITÉ EDITOR**

Catalina Alba Soto

María Laura Belaunzarán

Fernanda M. Frank

Karina A. Gómez

Silvia A. Longhi

Valeria Tekiel

### **Sede de la Sociedad Argentina de Protozoología**

Vuelta de Obligado 2490

C1428ADN – CABA, Argentina

e-mail de contacto: [secretaria-sap@protozoologia.org.ar](mailto:secretaria-sap@protozoologia.org.ar)

## XXXIII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE PROTOZOLOGÍA

### COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente Alejandro Nusblat  
 Miembros Gervasio Puca  
 Leonardo Alonso  
 Juan José Lauthier

### COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente Karina Gómez  
 Miembros Jacqueline Bua  
 Oscar Bottasso  
 Cecilia Alvareda  
 Soledad Santini  
 Silvina Wilkowsky  
 Sheila Ons  
 Mariana Potenza  
 Margarita Bisio

### COMISIÓN DIRECTIVA

Presidente Fernanda Frank  
 Vice-Presidente Catalina Alba Soto  
 Secretaria María Laura Belaunzarán  
 Pro-Secretaria Valeria Tekiel  
 Tesorera Silvia Longhi  
 Vocales Juan Burgos  
 Salomé Vílchez Larrea  
 Vocales Suplentes Juan Carlos Ramírez  
 Alejandro Nusblat

### AUSPICIOS



## ÍNDICE GENERAL

Programa Científico	1
Conferencias	5
Mesa Redonda 1: Inmunología y Patología	12
Mesa Redonda 2: Epidemiología y Vectores	14
Mesa Redonda 3: Biología Molecular y Celular	16
Mesa Redonda 4: Diagnóstico y Tratamiento	19
Comunicaciones orales (COP)	22
Pósters (P)	35
De Inmunología (I)	36
De Epidemiología y vectores (EV)	43
De Biología parasitaria (BP)	44
De Diagnóstico y tratamiento (DT)	72



## PROGRAMA CIENTÍFICO

### CONFERENCIA INAUGURAL:

**Dr. Michael Lewis**, LSHTM, Londres, Inglaterra

*"Experimental Digestive Chagas Disease"*

### CONFERENCIA DE CLAUSURA:

**Dra Susana Laucella**, INP, Buenos Aires, Argentina

*"Correlates of B-cell and innate immunity in seropositive and serodiscordant subjects for Trypanosoma cruzi infection"*

### TALLER 1: Experiencias de uso de CRISPR en *T. cruzi*

Coordinadores: Dr. Esteban Serra, Dr. Guillermo Alonso

#### Presentadores

**Dr. Janaina Freitas**, USP, San Pablo, Brasil

**Dr. Pamela Cribb**, IBR-UNR, Rosario, Argentina

**Dr. Virginia Balouz**, IIB, CONICET-UNSaM, Buenos Aires, Argentina

**Dr. María Ana Duhagon**, UdeLaR, Montevideo, Uruguay

**Dr. Salomé Vilchez Larrea**, INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina

### TALLER 2: La educación como herramienta para el acceso a la atención de la salud en Chagas

Coordinadoras: Dra. Margarita Bisio y Dra. Rocío Rivero

#### Presentadores

**Dr. Leonel Tesler**, UNPAZ, José C. Paz, Argentina

**Dr. Marcelo Fermepin**, UBA, Buenos Aires, Argentina

**Dra. María Laura Bizaí**, UNL, Santa Fé, Argentina

**Dra. Mariana Sanmartino y Dra. Carolina Carrillo**, CONICET - Grupo ¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?

#### Objetivos del taller

Reflexionar sobre el impacto de la formación de profesionales de carreras biomédicas y de la salud en el acceso a la atención de la salud de personas con infección por *T. cruzi*

### CONFERENCIA 1:

**Dra. Valeria Arza**, UNSAM, San Martín, Argentina

*"Prioridades de investigación para abordar las múltiples dimensiones del Chagas y el potencial de la ciencia abierta"*

### CONFERENCIA 2:

**Dr. Marcelo Urbano Ferreira**, USP, San Pablo, Brasil

*"The conquest of the Americas by malaria parasites"*

### CONFERENCIA 3:

**Dr. Ariel Silber**, USP, San Pablo, Brasil

*"Academic quantophobia, impatient science and publication costs: three problems in one"*

### CONFERENCIA 4:

**Dr. Ariel Silber**, USP, San Pablo, Brasil

*"How much (ATP) does it cost to build a trypanosome?"*

### CONFERENCIA 5:

**Dr. Mohamed-Ali Hakimi**, UGA, Grenoble, Francia

*"A network of transcriptional repressors governs commitment to merogony, a branch point in Toxoplasma sexual development"*

### MESA REDONDA 1: Inmunología y Patología

Coordinadores: Dr. Oscar Bottasso y Dra. María Cecilia Albareda

**Dr. Daniel González Maglio**, Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU-CONICET), Cátedra de Inmunología (FFyB-UBA). Buenos Aires, Argentina.

*"¿Puede la exposición solar condicionar la severidad y progresión de la Leishmaniasis tegumentaria?"*

**Dra. Cecilia Pérez Brandan**, Unidad de Biotecnología y Protozoarios (UBIPRO) Instituto de Patología Experimental, Salta, Argentina.

*"Empleo de componentes bacterianos como plataforma tecnológica para el desarrollo de vacunas contra Trypanosoma cruzi"*

**Dr. Iván Marcipar**, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

*"Evaluación de un tratamiento combinado con una vacuna terapéutica y Benznidazol para la infección crónica por Trypanosoma cruzi en ratones."*

**Dra. Valentina Martín**, Centro de Estudios en Salud y Medio Ambiente, Escuela de Ciencia y Tecnología, ITECA – CONICET, UNSAM, Buenos Aires, Argentina.

*"Proteínas recombinantes en vacunas experimentales contra Toxoplasma gondii"*

### COMUNICACIONES ORALES

**Magali Valenzano**, *"Predicción integral de epitopes T del parásito intracelular Babesia bovis mediante inmunopeptidómica"*

**Andrea C. Mesías**, *"Exosomes released by macrophages contacting Trypanosoma cruzi attenuated or virulent strains deliver a different immunological message"*

**Florencia Zabaleta**, *"Evaluación del fenotipo y la función de las células naturales asesinas circulantes en pacientes con enfermedad de Chagas crónica"*

**Maximiliano D. Maldonado**, *"Respuesta inmune humoral en ratones BALB/c frente antígenos de Tritrichomonas foetus con diferentes adyuvantes"*

### MESA REDONDA 2: Epidemiología y Vectores

Coordinadoras: Dra. Sheila Ons y Dra. Soledad Santini

**Dr. Gastón Mougabure Cueto**, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada. FCEN-UBA-CONICET. Buenos Aires, Argentina.

*"Toxicología sub-letal y resistencia a insecticidas en los insectos vectores de la enfermedad de Chagas"*

**Dr. Tomás Orduna**, Servicio de Medicina Tropical y Medicina del Viajero en Hospital de Infecciosas F. J. Muñiz de Buenos Aires.



*“Las leishmaniasis: síntesis clínico-epidemiológica desde la experiencia del médico asistencial tropicalista”*

**Dr. José Antonio Gasparini**, Equipo Técnico de la Dirección de Control de Enfermedades Transmisibles por Vectores, Córdoba, Argentina.

*“Hacia un abordaje integral de la Pérdida de seguimiento de Casos de Chagas vertical. Análisis en base a datos del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud”*

#### COMUNICACIONES ORALES

**Bronsson George Hinojosa García**, *“Mapeo de riesgo de la Enfermedad de Chagas en las comunidades de Pajcha y Tin Tin del departamento de Cochabamba-Bolivia”*

**Maria de los Milagros Camara**, *“Caracterización de la microbiota de Triatoma infestans en poblaciones de campo y laboratorio”*

**Emiliano Emanuel Campos**, *“Estudio de factores de riesgo perinatales involucrados en la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas a partir de una cohorte de gestantes con enfermedad de Chagas crónico asistidas en el Hospital Público Materno Infantil de Salta”*

**Laura M Tasso**, *“Tripanosomiasis humanas atípicas: ¿Trypanosoma lewisi está presente en las ratas sinantrópicas (Rattus norvegicus, Rattus rattus) de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y alrededores?”*

**María Laura Bizai**, *“Estrategia educativa de aprendizaje de Chagas mediante el uso de las TICs”*

#### MESA REDONDA 3: Biología Molecular y Celular

Coordinadoras: Dra. Jacqueline Búa y Dra. Silvina Wilkowski

**Dra. María Eugenia Francia**, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.

*“Honing in apicomplexan pathogenesis through higher resolution studies of nuclear mitosis in Toxoplasma gondii.”*

**Dra. Jessica Rodríguez**, Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. N. Torres” (INGEBI-CONICET) Buenos Aires, Argentina.

*“Studying proteins with unknown function in kinetoplastids: TcCAL1 and its role in the life cycle of T. cruzi.”*

**Dra. María Carolina Touz**, Instituto de Investigación Médica Mercedes y Marín Ferreyra, Córdoba, Argentina.

*“Una breve historia de cómo la proteína adaptina 2 asociada a clatrina regula la formación de quistes en Giardia lamblia”*

**Dra. Emma Marie Briggs**, School of Biological Sciences, Institute of Infection and Immunology Research University of Edinburgh and WCIP, University of Glasgow, United Kingdom.

*“Single cell transcriptomic analysis of the T. brucei cell cycle and differentiation deciphers cell cycle exit.”*

#### COMUNICACIONES ORALES

**Paula Faral-Tello**, *“Aislados de Trypanosoma cruzi naturalmente adaptados a la transmisión vertical muestran una estrategia única de pasaje transplacentario”*

**Emilia B. Sousa**, *“Desarrollo de una plataforma biomimética para el estudio de la captación de glóbulos rojos infectados con Plasmodium Falciparum en el bazo”*



**Florencia Mosquillo**, *“Aproximación al estudio del mecanismo de acción de compuestos organometélicos contra Trypanosoma cruzi”*

**Luz Sanchez Granel**, *“Caracterización de una nueva esteroles C-22 desaturasa del ciliado Tetrahymena thermophila”*

#### **MESA REDONDA 4: Diagnóstico y Tratamiento**

Coordinadoras: Dra. Margarita Bisio y Dr. Juan Carlos Ramírez

**Dr. Jaime Altcheh**, Servicio de parasitología y enfermedad de Chagas, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; IMIPP-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

*“Una red de investigación traslacional para el desarrollo de formulaciones pediátricas de Benznidazol y Nifurtimox.”*

**Dra. Rocío Rivero**, Instituto Nacional de Parasitología “Fátala Chaben”, ANLIS-Malbrán, Buenos Aires, Argentina.

*“Validación del uso de pruebas rápidas para la detección de la infección por T. cruzi en territorios conurbanos: una propuesta para facilitar el acceso al diagnóstico de Chagas.”*

**Dra. Adriana Falak**, Servicio de Infectología Hospital Fernández, Buenos Aires, Argentina.

*“Diagnóstico y tratamiento de encefalitis toxoplásmica: experiencia en un centro de referencia de atención de pacientes con inmunodeficiencia.”*

**Dra. María Isabel Jercic**, Instituto de Salud Pública de Chile, Chile

*“Desafíos en la acreditación de laboratorios de diagnóstico en el área de parasitología.”*

#### **COMUNICACIONES ORALES**

**Maria Lorena Ogas Castells**, *“Evaluación de un kit de diagnóstico molecular basado en LAMP para la copro-detección de ADN de Toxocara canis y T. cati”*

**Arturo Muñoz-Calderón**, *“Caracterización y seguimiento de poblaciones naturales de Trypanosoma cruzi refractarias al tratamiento etiológico en pacientes con enfermedad de Chagas oral”*

**Agustina Olaguibe**, *“Test rápido de IgM para el diagnóstico de Chagas vertical: prueba del antígeno SAPA de Trypanosoma cruzi como candidato para la detección”.*

**Tadeo Amato**, *“Environmental enrichment treatment improves systemic response in a murine model of chronic toxoplasmosis.”*



## RESÚMENES DE CONFERENCIAS



## CONFERENCIA INAUGURAL

### Experimental Digestive Chagas Disease

Khan, Archie A<sup>1</sup>, Langston, Harry C<sup>1</sup>, Francisco, Amanda F<sup>1</sup>, Walsh, Louis<sup>1</sup>, Costa Fernanda C<sup>1</sup>, Olmo, Francisco<sup>1</sup>, Jayawardhana, Shiromani<sup>1</sup>, Penning-Lambert, Joshua<sup>1</sup>, Taylor, Martin C<sup>1</sup>, McCann, Conor J<sup>2</sup>, Kelly, John M<sup>1</sup>, Lewis, Michael D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Infection Biology, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street, London, WC1E 7HT, U.K. <sup>2</sup>Stem Cells and Regenerative Medicine, University College London, Great Ormond Street Institute of Child Health, London, UK

Digestive Chagas disease (DCD) is an enteric neuropathy caused by infection with the protozoan pathogen *Trypanosoma cruzi*. Parasitism of the GI tract provokes an inflammatory response, which causes collateral damage to the enteric nervous system (ENS) and dysfunctional peristalsis, progressing to digestive megasyndromes in severe cases. Beyond this, little is known about the kinetics, underlying molecular/cellular mechanisms or determinants of susceptibility. We screened a series of mouse *T. cruzi* infection models using GI tracer assays and in vivo imaging systems to discover a subset exhibiting chronic digestive transit dysfunction and significant retention of faeces in both sated and fasted conditions. The colon was a specific region of parasite persistence, delayed transit and dramatic loss of myenteric neurons. Immune transcriptome profiling of colon tissue from DCD resistant BALB/c and susceptible C3H mice identified a set of genes putatively associated with GI permissiveness and disease severity. Next, we tested the hypothesis that benznidazole-mediated cure of infection translates into alleviation of DCD pathology. Sterile cure by early treatment (at 6 weeks) led to sustained and complete reversal of GI transit delay, accompanied by an ENS tissue repair transcriptional profile dominated by glial cell markers. However, late treatment (at 24 weeks)

only led to partial reversal of the DCD phenotype, suggesting the accumulation of permanent tissue damage during chronic infections. Importantly, benznidazole treatment failed to cure 40% of mice and parasite relapse coincided with a worsening of disease, but not to the level seen in untreated controls. We conclude that DCD pathogenesis is sustained by enduring *T. cruzi* infection and can be interrupted by sterilising anti-parasitic chemotherapy. However, the data also show that if treatment is delayed there is a risk that parasite-induced enteric neuromuscular tissue damage and dysfunction will become irreversible.

## CONFERENCIA DE CLAUSURA

### Correlates of B-cell and innate immunity in seropositive and serodiscordant subjects for *Trypanosoma cruzi* infection.

Elías MJ<sup>1</sup>, Cesar G<sup>1</sup>, Álvarez MG<sup>2</sup>, Albareda MC<sup>1</sup>, Natale MA<sup>1</sup>, Zabaleta F<sup>1</sup>, De Rissio AM<sup>1</sup>, López Albizu C<sup>1</sup>, Marco JD<sup>3</sup>, Parodi C<sup>3</sup>, Caputo MB<sup>1</sup>, Tarleton RL<sup>4</sup>, Lococo B<sup>2</sup>, Laucella SA<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatale Chabén, Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón, Pcia. de Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>Instituto de Patología Experimental, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina, <sup>4</sup>Center for Tropical and Emerging Global Diseases, University of Georgia, Athens, United States,

It has been shown that persistent *Trypanosoma cruzi* infection leads T-cell responses to exhaustion. We observed that *T. cruzi*-infected children with lower degrees of T-cell exhaustion achieve a faster response to treatment with benznidazole. We also demonstrated that subjects with one positive conventional test out of the three performed, who are regarded as “serodiscordant subjects” for *T. cruzi* infection, have more functional *T. cruzi*-specific T-cell responses. The existence of these subjects

suggests that some subjects exposed to *T. cruzi* might actually resolve the infection. The latter hypothesis is further supported by the existence of patients who spontaneously convert from seropositive to seronegative and the profile of drug-treated subjects who become seronegative but maintain memory T-cell responses. The aim of this study was to evaluate *T. cruzi*-specific antibody-secreting and memory B cells in seropositive subjects for *T. cruzi* infection prior to and after treatment with benznidazole and in serodiscordant subjects. The phenotypic profile of NK, monocytes and total B cells was also evaluated in seropositive and serodiscordant subjects. *T. cruzi*-specific antibody-secreting cells disappeared from the circulation in benznidazole-treated subjects with declining parasite-specific antibody levels following benznidazole administration but not in those with unaltered antibody levels. *T. cruzi*-specific memory B cells generally exhibited low prevalence prior to treatment and these levels did not improve after therapy regardless of treatment outcome. In contrast, serodiscordant subjects had higher levels of *T. cruzi*-specific memory B cells compared with untreated seropositive subjects whereas the levels of antibody-secreting cells were similar to those found in uninfected subjects. Serodiscordant subjects also showed a resting status of total B cells and higher levels of non-classical monocytes (cells associated with anti-inflammatory action and wound healing) and CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> (cells associated with cytotoxic function) compared with seropositive subjects. These findings support that *T. cruzi*-specific antibodies in SD subjects did not appear to derive from an active infection but more likely reflect prior exposure to *T. cruzi* and the establishment of immunological memory suggestive of a resolved infection.

## CONFERENCIA 1

### **Prioridades de investigación para abordar las múltiples dimensiones del Chagas y el potencial de la ciencia abierta.**

Valeria Arza y Sol Sebastián

CONICET / CENIT-EEyN-UNSAM

Entender el Chagas como una problemática socio-ambiental compleja multidimensional supone la necesidad de pensar para su abordaje soluciones integrales. Un abordaje integral implica contemplar aspectos relacionados con el manejo del ambiente, las particularidades de los contextos rurales y urbanos, las representaciones, los estereotipos, los prejuicios y las valoraciones sociales, entre otros. Realizamos un ejercicio de Mapeo Multicriterio (MCM, en inglés Multicriteria Mapping) para entender qué conocimiento se necesita para abordar las múltiples dimensiones del Chagas y qué alternativas tenemos para producirlo. Durante el ejercicio, los participantes discutieron cuáles son, desde sus perspectivas, las necesidades sociales de conocimiento en relación al Chagas y a partir de las mismas identificamos seis ejes temáticos como prioridades de investigación. A su vez, buscamos comprender, también desde el punto de vista de los distintos actores, cómo puede contribuir la ciencia abierta en cada uno de esos ejes. En la charla presentaremos los resultados a los que llegamos en este ejercicio.

## CONFERENCIA 2

**The conquest of the Americas by malaria parasites****Marcelo Urbano Ferreira**

Departamento de Parasitología, Universidad de de São Paulo, São Paulo, Brazil

The Americas were the last continent to be settled by modern humans, approximately 15,000 years ago, but human malaria parasites – *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, and *P. malariae* – appear to have arrived much later. Most available evidence suggests that malaria was introduced in the Americas after the European colonization – by settlers from Portugal and Spain, where malaria was endemic at the time of conquest, and, more importantly, by the massive Trans-Atlantic slave trade from Africa. Once in the Americas, *P. vivax* and *P. malariae* were able to adapt to new local vertebrate hosts, New World platyrrhine monkeys, originating the sister species *P. simium* and *P. brasilianum*, respectively. We are currently exploring whole-genome sequences to investigate the historical founding events and subsequent evolution of human malaria parasites in the Americas and their recurrent transfers to non-human primates. We apply standardized population genomic approaches to sequence data from three species to address the following questions: (a) Can the relative contribution of different source regions to present-day parasite populations in the Americas be inferred? (b) Are genomic sequence data consistent with similar routes and dates of introduction and subsequent spread in the Americas for all three human malaria parasites? (c) Is there evidence for genetic bottlenecks during the adaptation to new local vectors and vertebrate hosts upon arrival in the New World? (d) Are there genomic signatures of adaptation to platyrrhine monkeys following the host shift that originated *P. simium* and *P. brasilianum*?

## CONFERENCIA 3

**Academic quantophrenia, impatient science and publication costs: three problems in one.**Kowaltowski AJ<sup>1</sup>, Oliveira MF<sup>2</sup> & **Silber AM**<sup>3</sup> (alphabetic order).

<sup>1</sup>Energy Metabolism Laboratory. Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo, São Paulo – Brazil; <sup>2</sup>Laboratory of Biochemistry of Stress Response, Institute of Medical Biochemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – Brazil; <sup>3</sup>Laboratory of Biochemistry of Tryps – LaBTryps. Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo – Brazil.

During the XX century, and most particularly after the WW-II, knowledge became more and more a profitable commodity. This deeply reshaped the mechanisms and institutions used to produce and validate scientific knowledge, as well as to legitimate the main actors involved in this activity: the researchers. In the look for legitimacy, a race to accomplish productivity parameters started. Concomitantly, metrics to measure such a productivity gained momentum, pushing the abusive and largely inappropriate use of quantitative parameters to measure the quantity of quality of scientific production of individuals, institutions and even countries, based mostly on the impact factor of the journals where the research is published and the number of citations of articles or researchers. We called this phenomenon academic quantophrenia. The use of these parameters as a measure of legitimacy and success has been pushed an explosion in the number of publications, which fuelled a demand for new venues to disseminate the research, which was paralleled by a diminishing of the quality control of the published papers. We called the cultural environment created by this race for immediate revenues, mostly in terms of papers. The Open Access as an idea emerged in the 1970s. However, it was not implemented in a widespread manner until 2001, when several editorial groups embraced its main principles. These principles were idealistic and seemed in

line with a more equalitarian world. They can be summarized in two main points: i. all published scientific information should be available for everyone, without the need for institutions to subscribe to the venues where information is published; ii. authors should keep copyrights of their intellectual production. To make this new paradigm economically feasible, it was broadly agreed that authors (or their funders) should pay for costs to publish and disseminate the articles after peer review and editorial handling. As most of the scientific editorial market is unregulated, and the dominant culture in Academia is that of impatient science, it was created a demand to publish research outcomes at any cost, preferably in reputed or brand-name journals. The result is that article publishing costs (APCs) to authors skyrocketed, particularly in well-perceived journals, reaching values over 10,000 USD per article in some cases. Publications in these journals became an unsurmountable barrier for the progression of scientific careers, as many scientists do not have funds necessary to cover these costs. This is threatening career perspectives for researchers with limited research budgets, including early career scientists and those in the developing world. Open access, as it stands today, is effectively allowing most scientists to read formally published scientific information, however, by limiting the ability to publish for many researchers, it is creating a worldwide division between those who can and cannot showcase their work to the world.

## CONFERENCIA 4

### How much (ATP) does it cost to build a trypanosome?

Nascimento J. F.<sup>1</sup>, Marsiccobetre S.<sup>1</sup>, Murillo A. M.<sup>1</sup>, Souza R. O. O.<sup>1</sup>, Damasceno F.S.<sup>1</sup>, Girard R. B. M. M.<sup>1</sup>, Alencar M. B.<sup>1</sup>, Marchese L.<sup>1</sup>, Luévano-Martinez L.<sup>1</sup>, Achjian R. W.<sup>1</sup>, Haanstra J. R.<sup>2</sup>, Michels P. A. M.<sup>3</sup> & **Silber AM**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Biochemistry of Tryps – LaBTryps. Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo – Brazil;

<sup>2</sup>Systems Biology Lab, Amsterdam Institute of Molecular and Life Sciences (AIMMS), Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands; <sup>3</sup>School of Biological Sciences, The University of Edinburgh, Edinburgh, UK.

High-energy phosphate bonds are the major energy drive for all biological processes involved in cell maintenance and duplication, since their hydrolysis liberates the  $\Delta G$  necessary to support energetically costly processes. These bonds are exchangeable with the ATP alpha and beta phosphate bonds. Therefore, the total high-energy phosphate bonds used in biological processes are usually translated in the quantity of ATP molecules consumed, and for this reason ATP is considered the major energy currency of cells. Energy derived from ATP hydrolysis is used for synthesis, transport and polymerization of monomers of macromolecules, for the assembly of the cell constituents, as well as for powering the maintenance of membrane potentials, cellular shape, motility, and turnover of macromolecules. The bloodstream form (BSF) of *Trypanosoma brucei* is mostly present in the peripheral circulation of the mammalian host, where its main energy source glucose is highly abundant and available. It is known that BSF *T. brucei* uses very little or no glucose to synthesise biomass and depends on the extracellular availability of other essential nutrients which serve as carbon sources for the biosynthesis of precursors. Approximately 97% of the glucose consumed by the BSF is directed to ATP synthesis. As glycolysis is largely the main source for the produced ATP, we were able to calculate the total number of molecules of ATP/cell per

cell cycle. Here, we made an estimation of how this energy is spent during a cell cycle: to stay alive and to duplicate, which includes: biomass maintenance and production, flagellar motility, maintenance of transmembrane gradients, ATP-dependent transport and VSG recycling. Finally, there is still approximately 8% of the remaining energy budget available for other cellular processes of which the cost has yet to be fully elucidated. These data put a new perspective to the assumptions about the relative weight of cellular processes the BSF undergo during its cell cycle, and on it spends its ATP inside its mammalian host.

## CONFERENCIA 5

### **A network of transcriptional repressors governs commitment to merogony, a branch point in *Toxoplasma* sexual development.**

Ana Vera Antunes<sup>1†</sup>, Martina Shahinas<sup>1†</sup>, Christopher Swale<sup>1†</sup>, Dayana C. Farhat<sup>1</sup>, **Mohamed-Ali Hakimi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institute for Advanced Biosciences (IAB), Team Host-pathogen interactions and immunity to infection, INSERM U1209, CNRS UMR5309, University Grenoble Alpes, Grenoble, France.

† These authors contributed equally to this work.

Parasites provide a unique system for studying epigenetic transcriptional control because they can survive in a wide range of host environments and must rapidly switch between them. Each stage of the life cycle requires its own set of genes, and our goal is to unravel the epigenetic mechanisms that control these precisely timed transcriptional programs. Recently, we discovered the function of MORC, a chromatin-associated factor that is important in *T. gondii* sexual commitment (Farhat et al. *Nature Microbiology*, 2020). MORC has been shown to recruit the histone deacetylase HDAC3 in complex with primary Apetala 2 (AP2) transcription factors, restricting chromatin accessibility at genes expressed only during

sexual stages. We present our latest findings since the discovery of MORC, including strong evidence that two AP2 transcription factors associated with MORC and HDAC3 cooperate in repressing merozoite-specific genes. Zites lacking both AP2 factors exhibit a distinct merozoite transcriptional signature and undergo endopolygony with karyokinesis during merogony. The absence of both AP2s resulted for the first time in vitro in the formation of fully developed merozoites characterized by their elongated shape and a nucleus at the basal pole. We will present compelling evidence that both AP2s are involved in the recruitment of MORC and HDAC3 to chromatin. Finally, we will present data showing how secondary AP2s and other TFs likely act downstream of MORC and contribute to life cycle unidirectionality. These significant results represent a paradigm shift in the study of heterochromatin-mediated gene silencing of stage-specific genes and pave the way for epigenetic reprogramming of *T. gondii* sexual development in vitro.

## RESÚMENES DE MESAS REDONDAS



## MESA REDONDA 1: Inmunología y Patología

### Evaluación de un tratamiento terapéutico combinado con una vacuna y Benznidazol para la infección crónica producida por *Trypanosoma cruzi*

Prochetto Estefanía<sup>1</sup>, Bontempi Iván<sup>1</sup>, Rodeles Luz<sup>2</sup>, Cabrera Gabriel<sup>1</sup>, Vicco Miguel<sup>2</sup>, Cacik Paula<sup>1</sup>, Pacini María Florencia<sup>3</sup>, Pérez Gianceselli Mónica<sup>4</sup>, Perez Ana Rosa<sup>3</sup>, **Marcipar Iván<sup>1</sup>**.

<sup>1</sup>Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. <sup>3</sup>IDICER-CONICET and Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

Se estudió la utilidad de aplicar una vacuna terapéutica sola o seguida de quimioterapia con benznidazol (Bz) para el tratamiento de la infección crónica producida por *Trypanosoma cruzi*. Como vacuna se utilizó una formulación a base de un fragmento N-terminal de Transsialidasa y el Adyuvante ISPA (jaulas lipídicas con saponina). Se utilizaron dos modelos de infección: Ratones BALB/c crónicamente infectados con las cepas de *T. cruzi* Sylvio/X10/4 o Tulahuen/cl2 respectivamente. Se estudiaron grupos de ratones no tratados, tratados solo con vacuna, solo con Bz o con ambos. La vacuna se aplicó a los 110, 120 y 130 días pos-infección (dpi) y el Bz diariamente desde los 140 a 170 dpi. A los 273 dpi se evaluaron parámetros electrocardiográficos (ECG), carga parasitaria cardíaca, miocarditis y fibrosis cardíaca. En ambos modelos se observó un efecto beneficioso de la vacuna terapéutica administrada sola ya que redujo las alteraciones del ECG, el daño tisular cardíaco y la carga de parásitos cardíacos en la fase crónica. El tratamiento combinado con la vacuna y Bz tuvo un efecto superador en relación a los tratamientos individuales de vacuna o Bz en los

ratones infectados con la cepa Tulahuen/cl2 pero no Sylvio/X10/4.

### Proteínas recombinantes en vacunas experimentales contra *Toxoplasma gondii*

**Martin, Valentina**

Laboratorio de Vacunas y Alergia – CESyMA - Instituto de Tecnologías Emergentes y Ciencias Aplicadas - ECyT-UNSAM – CONICET. Buenos Aires, ARGENTINA.

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica con prevalencia a nivel mundial en poblaciones humanas y animales. Se estima que un tercio de la población mundial se encuentra infectada y particularmente en Argentina la prevalencia alcanza 51% en algunas regiones. En individuos sanos, la infección resulta generalmente asintomática, pero puede causar severas complicaciones en fetos cuando las mujeres se primo-infectan o en personas inmunosuprimidas. Existen drogas disponibles para su tratamiento, pero éstas son efectivas sólo durante la fase aguda de la infección que resulta difícil de diagnosticar y, además, tienen efectos adversos. La forma de infección más frecuente es a través de la ingestión de agua o vegetales contaminados con quistes liberados en las heces de felinos infectados y el consumo de carne procedente de animales infectados. Adicionalmente, en pequeños rumiantes la toxoplasmosis es considerada una causa importante de problemas reproductivos ya que puede inducir abortos y muerte fetal representando una grave amenaza para las economías agrícolas sostenibles. Actualmente, la única vacuna disponible está compuesta por parásitos vivos atenuados y se utiliza sólo en ovejas y cabras para prevenir abortos. Sin embargo, tiene una vida de almacenamiento corta, induce una inmunidad breve y tiene un costo alto. Teniendo en cuenta las deficiencias que existen relacionadas con la prevención y tratamiento de la toxoplasmosis en humanos, nuestro principal objetivo está centrado en la búsqueda de nuevas formulaciones vacunales,



contribuyendo así al diseño de una vacuna recombinante. En este contexto, nos abocamos al desarrollo de una vacuna de subunidad basada en proteínas recombinantes del parásito. Investigamos la utilización de nuevos antígenos y adyuvantes adecuados para uso en animales domésticos y de interés económico, con la perspectiva de generar una herramienta de intervención sanitaria en la producción de ganado de cría para consumo humano.

### **Associated parasite-bacterial engineered vaccines for Chagas Disease based on *Trypanosoma cruzi* antigenic proteins and secure bacterial components**

**Cecilia Pérez Brandán**, María Elisa Vázquez, Brenda Zabala, Andrea Mesías, Cecilia

Parodi, Natalia Corbalán, Leonardo Acuña

Unidad de Biotecnología y Protozoarios (UBIPRO), Instituto de Patología Experimental, Salta, Salta, Argentina.

According to the World Health Organization, Neglected Tropical Diseases are common in tropical regions and generally affect people that live in extreme poverty, with no access to clean water, and with scarce or absent medical assistance. Chagas Disease, endemic in the north of Argentina, is considered one of these disorders. Chemotherapy is possible, however severe adverse episodes and lack of effectiveness at the different stages of the infection have a negative impact on treatment adherence. On the other hand, great efforts with no evident success- have been made in relation to vaccine development against *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent responsible for this pathology. Fortunately, there is a fresh impetus to develop novel therapeutics and prophylactic strategies. At this point is where bacteria gain special attention. There is vast accumulated knowledge on how to manipulate them, since they have been used for so many years in scientific investigation. Their assets for research lie in their ease of use, rapid growth, low cost

and the possibility of manipulating their genomes. For the last few years our group have been working in exploring different strategies for the development of a vaccine against Chagas Disease based on bacteria components. So far, we have evaluated the efficacy of genetically engineered bacteria outer membrane vesicles (OMVs) expressing different *T. cruzi* antigens in conferring protection against virulent infection in vaccinated animals. Our results suggest that the performance of recombinant OMVs as potential immunogen for Chagas Disease is worth considering and promising but deserves further studies. Additionally, we are evaluating the behavior of *Lactobacillus* genetically decorated with parasite antigens in a prime and boost classical protection scheme in a mouse model. We strongly believe that advances in this area may have a significant impact on the future prospects of populations affected by these pathologies.

### **¿Puede la exposición solar condicionar la severidad y progresión de la Leishmaniasis tegumentaria?**

**Daniel González Maglio**

Instituto de Estudio de la Inmunidad humoral Prof. Ricardo A. Margni, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina

La exposición de la piel al sol promueve importantes efectos sobre la salud de los seres humanos. Por un lado, es clave para la correcta síntesis de vitamina D, evitando enfermedades como el raquitismo. Por otro, la sobreexposición es la principal causa del desarrollo de cáncer de piel. Este efecto nocivo se debe al daño directo al ADN de las células expuestas y a un efecto inmunosupresor indirecto. Las respuestas inmunes, especialmente las respuestas de Linfocitos T (LT) de perfil Th1, se encuentran disminuidas en individuos expuestos a radiación solar (la porción UVB del espectro es la responsable del efecto). La Leishmaniasis es una zoonosis causada por parásitos protozoarios del género *Leishmania*. En Argentina, la especie

predominante es *L. braziliensis*, causante de Leishmaniasis tegumentaria (afecta piel y mucosas). La acción de LT de perfil Th1 es clave para la correcta eliminación de los parásitos dentro de células fagocíticas.

El objetivo de esta nueva línea de investigación es analizar si la exposición a radiación solar condiciona la resolución clínica de la Leishmaniasis tegumentaria y promueve el avance hacia lesiones cutáneas múltiples y lesiones mucosas. Para estudiar el objetivo proponemos tres abordajes experimentales (epidemiológico, personal y molecular), que serán presentados brevemente junto a los primeros resultados obtenidos para el último abordaje. En este, se evaluó la concentración de 25-OH Vit D como reporte de exposición solar en muestras de sueros de pacientes con lesiones cutáneas aisladas (LC) y lesiones mucocutáneas (LMC). Además, se cuantificaron los niveles de citoquinas pro y anti- inflamatorias (TNF- $\alpha$  e IL-10), esta última relacionada con el efecto inmunosupresor de la exposición a radiación solar. Los niveles de Vit D no mostraron diferencias significativas entre los grupos de pacientes estudiados; sin embargo, se encontró una mayor relación IL-10/TNF- $\alpha$  (tendiente a la regulación de la respuesta inmune) en el grupo con LMC.

## Mesa Redonda 2: Epidemiología y Vectores

### Toxicología subletal y resistencia a insecticidas en los insectos vectores de la enfermedad de Chagas.

**Gastón Mougabure-Cueto**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología de Insectos, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada – IBBEA (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>CONICET

El Chagas es considerada una de las parasitosis humanas más importantes de América. La enfermedad es producida por el protista

trypanosomatido *Trypanosoma cruzi*, y su principal modo de transmisión es a través de heces infectadas de insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (familia Reduviidae). En nuestro país, *Triatoma infestans* es el principal vector de la enfermedad. Al ser una enfermedad que carece de una vacuna y de un tratamiento eficaz para las formas crónicas, el control químico de los vectores (i.e. el uso de insecticidas) es la principal herramienta empleada para reducir su incidencia. En esta charla presentaré los resultados de nuestras investigaciones que tienen como objetivo dilucidar la interacción entre diferentes procesos vinculados al rol de los triatominos como vectores: procesos biológicos del insecto vinculados con su competencia vectorial y/o de relevancia epidemiológica, procesos toxicológicos asociados al uso de insecticidas (i.e. evolución de resistencia a insecticidas y efectos subletales) y la infección con el parásito *T. cruzi*. Por un lado, estudiamos si diferentes aspectos de la biología de *T. infestans* que determinan su relevancia epidemiológica son afectados por la resistencia a insecticidas, las dosis subletales de insecticidas y la infección con *T. cruzi*. Por otro lado, estudiamos la interacción en el insecto entre la infección con *T. cruzi* y los procesos toxicológicos mencionados arriba. En este contexto de interacción entre procesos fisiológicos, toxicológicos e infectivos es donde surgen las preguntas que intentamos responder: ¿la resistencia a insecticidas en *T. infestans*, las dosis subletales de piretroides y la infección con *T. cruzi* afectan la biología del insecto?, si afectan, ¿cuáles serían sus consecuencias epidemiológicas o sobre la competencia vectorial del insecto?, en el caso de la resistencia ¿pueden interpretarse como costos biológicos o adaptaciones en el ambiente natural?, en el caso de la infección ¿pueden interpretarse como manipulación adaptativa del hospedador por parte del parásito o sólo consecuencias necesarias de la infección?, ¿los mecanismos de resistencia y las dosis subletales afectan el desarrollo de la infección?, ¿la infección afecta la susceptibilidad del insecto a los insecticidas? El conocimiento obtenido durante el desarrollo de

estas investigaciones permitirá profundizar la comprensión del rol epidemiológico de *T. infestans* y la plasticidad como vector al estudiar su biología en contextos de gran significancia (e.g. la resistencia, las dosis subletales de insecticidas o la infección), pero llamativamente poco abordados.

## Las leishmaniasis: síntesis clínico-epidemiológica desde la experiencia del médico asistencial tropicalista.

Tomás Orduna

Hospital Muñiz

Las leishmaniasis representan un conjunto de enfermedades causadas por distintas especies de parásitos protozoarios del género *Leishmania*. La expresión clínica de la infección con parásitos de dicho género se traducirá en un amplio espectro, desde una infección asintomática hasta cuadros graves de Leishmaniasis visceral o Leishmaniasis mucosa o muco-cutánea, dependiendo de la especie de leishmania implicada y de la respuesta particular del huésped, mediada por la inmunogenética y/o el estado transitorio de su sistema inmune, sobre todo de la inmunidad celular. En la Argentina se han identificado las especies *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. guyanensis* y *L. infantum*. Las tres primeras causantes de Leishmaniasis tegumentaria, y la última de Leishmaniasis visceral. Vale destacar que la mayoría de los cuadros tegumentarios son causados por la especie *L. braziliensis*, que puede generar tanto compromiso cutáneo como mucoso. El área de distribución geográfica corresponde a las regiones en que hay vectores adecuados para su transmisión, es decir flebótomos, cuya vigilancia muestra ampliación de los territorios potencialmente endémicos por dispersión de las distintas especies vectoriales. Esto es conocido en el caso de las especies con capacidad de transmitir *L. braziliensis* más allá del área “histórica”, que abarca desde la frontera

norte del país hasta los 30 grados de Latitud Sur, aproximadamente, y desde la frontera con Brasil y Paraguay hasta la precordillera (altitud de hasta 2500 metros sobre el nivel del mar), y el hallazgo de flebótomos en el norte de la Provincia de Entre Ríos o en el noreste de la provincia de Córdoba. En el caso de *Lutzomya longipalpis*, principal flebótomo transmisor de *L. infantum*, en los últimos 12 años se ha constatado su presencia en las provincias de la Mesopotamia hasta el centro de Entre Ríos sobre la margen del río Uruguay, como así también en la región del Chaco salteño. ¿Y cuál sería la razón de conocer esta particular geografía, la presencia de flebótomos y qué especies de leishmanias hay en cada región?: de ello depende que el médico que asiste a una persona con una lesión cutánea o mucosa pueda y deba incorporar en el diagnóstico diferencial a Leishmaniasis tegumentaria; o en el caso de síndromes febriles de más de 15 días de evolución, con o sin gran repercusión sistémica, pensar en Leishmaniasis visceral. La falta de diagnóstico precoz y tratamiento adecuado contribuye al aumento de la morbimortalidad, tanto por progresión de lesiones cutáneas extensas o mucosas desfigurantes, como a las complicaciones de la leishmaniasis visceral y la muerte por retraso en la instauración del tratamiento antiparasitario.

## Hacia un abordaje integral de la Pérdida de seguimiento de Casos de Chagas vertical. Análisis en base a datos del SNVS (Sistema Nacional de Vigilancia en Salud)

Gasparini, José Antonio. DCETV (MSN). Córdoba.

La Vertical es la vía de transmisión más frecuente constatada actualmente del Chagas en la Argentina. Se ha establecido por Ley 26.281 la obligatoriedad del estudio para Chagas de toda embarazada y a su vez el de los hijos e hijas de aquellas que resultaran positivas. Sin embargo, es lejana la meta de su total cumplimiento. Una porción de las hijas e hijos nacidos de gestantes

con Chagas reciben la infección por *T. cruzi*, y pueden curarse si se los diagnostica y trata en forma temprana. Históricamente se han tomado indicadores de gestión para monitorear la cobertura de estudio para Chagas en embarazadas y en sus hijos e hijas, valorando las performances particulares de cada tramo del proceso.

El presente trabajo propone determinar la pérdida total de seguimiento de los casos, considerando el proceso como un todo, superando las evaluaciones parciales mencionadas que, a la luz de los hallazgos, serían reflejo de una mirada tan fragmentada como el sistema mismo que pretende actualmente abordar la problemática.

El estudio para Chagas en gestantes durante 2019 (mejor de los últimos años) da una cobertura del 60% aproximadamente, según SNVS (2022-04-27), calculada respecto a los nacidos vivos en el Sector Público (extraídos de DEIS), como se lo hace históricamente desde la DCETV. Podemos inferir, según prevalencia hallada, que en ese sector esperaríamos unas 7139 gestantes positivas, pero se han notificado 2944, o un 41% de ellas en ese año. Se estudiaron 1362 hijos e hijas de las gestantes positivas, lo que constituye un 19% de la totalidad esperada en el Sector Público. Asumiendo una Tasa de transmisión vertical de Chagas del 5%, se captó el 21% de los casos esperados. Para finalizar, debemos decir que se registra el otorgamiento del tratamiento en un porcentaje del 11% al año.

Los números así mirados, referidos a la totalidad de casos producidos anualmente, indican pérdida de seguimiento en cascada y sugieren una revisión de los procesos para integrar los esfuerzos.

### Mesa Redonda 3: Biología Molecular y Celular

#### Homing in apicomplexan pathogenesis through higher resolution studies of nuclear mitosis in *Toxoplasma gondii*

Tomasina, Ramiro<sup>1,2</sup>; González, Fabiana C.<sup>1,2</sup>; S. Martins-Duarte, Érica<sup>3</sup>; Bastin, Philippe<sup>4</sup>; Gissot, Mathieu<sup>5</sup>, Francia, María E.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Apicomplexan Biology. Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Parasitology and Mycology Department, School of Medicine, Universidad de La República, Uruguay. <sup>3</sup>Departamento de Parasitología, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil. <sup>4</sup>Trypanosome Cell Biology Unit, Institut Pasteur Paris, Paris, France. <sup>5</sup>Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 - UMR 9017 - CIL - Center for Infection and Immunity of Lille, Lille, France

Centrosomes are the main microtubule-organizing center of the cell. They are normally formed by two centrioles, embedded in a cloud of proteins known as pericentriolar material (PCM). The PCM ascribes centrioles with their microtubule nucleation capacity. *Toxoplasma gondii*, the causative agent of toxoplasmosis, critically relies on successful cell division for its pathogenesis. The centrosome plays central roles in orchestrating the temporal and physical coordination of organelle segregation and daughter cell formation. The *Toxoplasma* centrosome is constituted by two domains; an outer core, distal from the nucleus, and an inner core, proximal to the nucleus. This dual organization has been proposed to underlie *T. gondii*'s cell division plasticity. The outer core has been shown to play critical roles in the assembly of daughter cells. However, the role of the inner core remains undeciphered. Here, we focus on understanding the function of the inner core by studying the dynamics and role of its only known molecular marker; TgCEP250L1. We show that upon conditional degradation of TgCEP250L1, mutants exhibit nuclear segregation defects, whilst normally forming

daughter cells. In addition, the rest of the centrosome, defined by the position of the centrioles, disconnects from the nucleus. Given that the centrosome size is at the resolution power of classical microscopy, we explore the structural defects underlying these phenotypes by ultrastructure expansion microscopy. We show that TgCEP250L1's location is dynamic and encompasses the formation of the mitotic spindle. Moreover, we show that in the absence of TgCEP250L1, the microtubule binding protein TgEB1, fails to translocate from the nucleus to the mitotic spindle, while polyploid nuclei accumulate. Overall, our data supports a model in which the inner core of the *T. gondii* centrosome critically participates in cell division by directly impacting the formation or stability of the mitotic spindle.

## Estudiando proteínas con función desconocida en kinetoplastidos: TcCAL1 y su rol en el ciclo de vida de *T. cruzi*.

**Rodríguez-Durán Jessica**, Gallardo Juan Pablo, Gómez Karina, Potenza Mariana.

Laboratorio de Biología e Inmunología de las Infecciones por Tripanosomátidos. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Héctor N. Torres”. INGEBI-CONICET. Buenos Aires, Argentina.

En *Trypanosoma cruzi*, el calcio juega un papel importante en los procesos de invasión a la célula hospedadora y en la metacicloogénesis. TcCAL1 es una proteína sin función conocida y exclusiva de kinetoplastidos, que posee dos dominios *EF-hand* para la unión a  $Ca^{2+}$ . En este trabajo, estudiamos el rol de TcCAL1 en algunos procesos del ciclo de vida de *T. cruzi*. Se encontró que la sobreexpresión de la proteína de fusión TcCAL1x6His inhibe la diferenciación de epimastigotes (E) a tripomastigotes metacíclicos (TM). Esto podría ocurrir debido al secuestro de  $Ca^{2+}$  citosólico por TcCAL1x6His, lo que disminuye los niveles del ion en la célula, afectando negativamente la metacicloogénesis. También, observamos que la sobreexpresión de TcCAL1x6His provocó un aumento en los índices

de adhesión e infección de TM a células Vero. Este resultado, sumado al hallazgo que los niveles de expresión de TcCAL1 endógena son mayores en tripomastigotes (T), respecto a amastigotes axénicos (Ax) o E, sugiere que esta proteína está involucrada en los procesos de invasión del parásito a la célula hospedadora. No obstante, los mecanismos por los cuales TcCAL1 promueve la virulencia del parásito se mantienen en estudio. Por otro lado, la sobreexpresión de TcCAL1x6His no afectó las tasas de proliferación de E, así como tampoco la amastigogénesis *in vitro*. Ensayos de microscopía de inmunofluorescencia, mostraron que TcCAL1 se localiza en todo el cuerpo celular en amastigotes (A), T y E. Mediante ensayos de doble híbrido en levaduras y co-inmunoprecipitación, se identificaron proteínas que interactúan con TcCAL1 que tienen dominios tipo prefoldina o armadillo, aún no caracterizadas en el parásito. Se profundizará en el estudio del entorno molecular, citosólico y asociado a membrana, de TcCAL1. Se estudiará la unión de  $Ca^{2+}$  a TcCAL1 y los niveles de  $Ca^{2+}$  intracelular en los parásitos transgénicos, así como también el efecto del silenciamiento del gen *tccal1* en el ciclo de vida de *T. cruzi*.

## Una breve historia de cómo la proteína asociada a clatrina, adaptina 2, regula la formación de quistes en *Giardia lamblia*

Constanza Feliziani, María Romina Rivero y **María Carolina Touz**

Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra, INIMEC - CONICET - Universidad Nacional de Córdoba, Friuli 2434, Córdoba, Argentina.

El parásito protozoario *Giardia lamblia* adquiere colesterol del medio ambiente siendo esto vital para el crecimiento de los trofozoítos. Por el contrario, la falta de colesterol se describió como un evento esencial para desencadenar el proceso de enquistamiento, la diferenciación de los trofozoítos a quistes maduros. Durante el ciclo celular de *G. lamblia*, el colesterol se

adquiere como molécula libre, así como a través de endocitosis mediada por receptor (EMR) de lipoproteínas. Para analizar la implicación de EMR en el proceso de diferenciación celular de *G. lamblia*, realizamos la reducción en la expresión de la subunidad media (Glu2) de la proteína adaptina (GIAP2) y encontramos que alteraba la EMR, desencadenando el proceso de enquistamiento en células en crecimiento. Contrariamente a lo esperado, la disminución de la expresión de Glu2 produjo una cohorte de trofozoítos que produjo quistes significativamente menos maduros cuando se indujo el enquistamiento. Posteriormente, se realizó el análisis de la localización subcelular de Glu2 y la proteína de la pared del quiste 1 (CWP1) durante el enquistamiento, para diseccionar el proceso. Nuestros resultados muestran, por un lado, que el bloqueo de la EMR inhibiendo la expresión de Glu2, y probablemente la entrada de colesterol, es suficiente para inducir la diferenciación celular pero no para completar el proceso de enquistamiento. Por otro lado, observamos que GIAP2 es necesario para lograr los pasos finales del enquistamiento, mediante la clasificación de CWP1 en la membrana plasmática para la formación de la pared del quiste. La comprensión de los mecanismos involucrados en la formación de quistes debería proporcionar conocimientos novedosos sobre el control de la giardiasis, una enfermedad endémica desatendida en todo el mundo.

## Single cell transcriptomic analysis of the *T. brucei* cell cycle and differentiation deciphers cell cycle exit.

Emma Briggs<sup>1,2</sup>, Federico Rojas<sup>1,3</sup>, Catarina Marques<sup>2</sup>, Richard McCulloch<sup>2</sup>, Thomas Otto<sup>2</sup>, Keith Matthews<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Immunology and Infection Research, School of Biological Sciences, University of Edinburgh, Edinburgh, UK;

<sup>2</sup>Wellcome Centre for Integrative Parasitology, Institute of Infection, Immunity and Inflammation, University of Glasgow, Glasgow, UK; <sup>3</sup>Biomedical and Life Sciences,

Faculty of Health and Medicine, Lancaster University, Lancaster, LA1 4AT, UK.

The African trypanosome life cycle involves differentiation transitions between replicative and cell cycle arrested forms. In the mammalian host, a quorum sensing process causes proliferative ‘slender’ bloodstream forms to differentiate into cell cycle arrested ‘stumpy’ bloodstream forms, which are primed for transmission to the tsetse fly. Once in the tsetse fly midgut, bloodstream forms differentiate into replicating procyclic forms. Single cell transcriptomics (scRNA-seq) now allows the dissection of mixed populations, both in terms of life cycle and cell cycle stages, bioinformatically and without prior cell sorting.

Previously, we have used Chromium scRNA-seq to analyse transcriptome changes during slender to stumpy differentiation in response to oligopeptides *in vitro*. This analysis deconvolved the asynchronous developmental progression to reveals the relative timing of events during differentiation, including the timing of stumpy associated cell cycle exit between early and late G1 (Briggs et al, *Nature Communications*, 2021). Now we have used scRNA-seq to analyse *in vitro* replicating monomorphic bloodstream form and procyclic form *T. brucei* to profile cell cycle transcript changes in new detail. Using non-linear trajectory inference and pseudotime analysis we find 740 genes regulated at the transcript level in both life cycle form. We additionally resolve the dynamic transcript level patterns over the cell cycle to classify genes based on expression, identify novel markers and putative cell cycle regulators. Comparison to proteomics datasets (Crozier et al *Mol Cell Proteomics*, 2018; Benz et al *Scientific Reports*, 2017) further reveals a temporal delay between transcript and protein level regulation.

Comparison of transcript level regulation between the monomorphic bloodstream form cell cycle and slender-to-stumpy form differentiation, reveals the putative key regulators of G1 to G0 cell cycle exit.

## Mesa Redonda 4: Diagnóstico y Tratamiento

### Diagnóstico y tratamiento de encefalitis toxoplásmica: experiencia en un centro de referencia de atención de pacientes con inmunodeficiencia

Falak, Elena Adriana, Hospital Juan A. Fernández, Buenos Aires, Argentina.

Según ONUSIDA hay en el mundo más de 38 millones de personas que viven con HIV, de las cuales alrededor de un cuarto no tienen acceso al tratamiento antirretroviral, evolucionando con deterioro inmunológico (CD4 < 200) y riesgo de desarrollo de enfermedades oportunistas (EO). En Argentina la Encefalitis Toxoplásmica (ET) es una de las EO más frecuentes, siendo el primer evento relacionado a SIDA en el 5% de los pacientes y el 22% en los subsecuentes. Se muestran los datos de los 14 casos con sospecha de ET en el período comprendido entre mayo de 2021 y junio de 2022. En 10 de ellos la ET fue la primera enfermedad oportunista y en 5 se diagnosticó junto con la infección por HIV. Con respecto al estatus viroinmunológico 12 pacientes tenían valores de CD4  $\geq$  100 cél, (8 de ellos  $\geq$  50 cél). La serología para toxoplasmosis fue positiva en 10/14 pacientes. Se obtuvo PCR de *Toxoplasma gondii* en LCR en 6/14 pacientes, de los cuales en 2 fue positivo (1 con serología persistentemente negativa). La imagen inicial en todos los pacientes fue la resonancia magnética nuclear (RMN). Sólo 4 pacientes presentaron las 3 características típicas de ET. De los 14 pacientes, 13 tuvieron una respuesta clínica favorable al tratamiento empírico. Casi la mitad de los pacientes (n=6) tuvieron diagnósticos concurrentes de otras patologías oportunistas junto con la sospecha de toxoplasmosis. Los estudios serológicos contribuyen al diagnóstico, pero pueden ser poco fidedignos en pacientes con inmunodeficiencia avanzada quienes no producen anticuerpos específicos, por lo cual la

PCR es una herramienta diagnóstica importante. Se discute el abordaje diagnóstico y terapéutico y la necesidad de métodos no invasivos como herramientas auxiliares, ya que el diagnóstico de certeza sólo puede realizarse por examen histopatológico de biopsia cerebral, un procedimiento invasivo asociado a morbilidad, el cual queda reservado para los casos sin mejoría clínica y en las imágenes luego de 2-3 semanas de tratamiento.

### Una red de investigación traslacional para el desarrollo de formulaciones pediátricas de benznidazol y nifurtimox

Altcheh Jaime

Parasitología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP) CONICET- GCBA, Buenos Aires, Argentina

Solo 2 drogas están disponibles para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, el Benznidazol y el Nifurtimox. La eficacia y seguridad del tratamiento, con benznidazol y nifurtimox, de la enfermedad de Chagas en niños está sustentada por un significativo cúmulo de evidencia. Sin embargo, son pocos los estudios clínicos controlados que se han realizado en la población pediátrica. Hace varios años implementamos una red de investigación clínica para el desarrollo de estudios clínicos. Red PEDGHAGAS. Los primeros estudios permitieron el desarrollo de la formulación pediátrica de benznidazol que posteriormente fue aprobada por FDA. Estos estudios demostraron que menores concentraciones en sangre de benznidazol eran eficaces para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Esta información sirvió como racional para estudios clínicos en adultos utilizando menores dosis de esta medicación. El nifurtimox sólo se encontraba disponible en una única presentación de comprimidos de 120 mg. La farmacéutica Bayer comenzó el desarrollo de una formulación pediátrica ranurada dispersable de 30 mg. Por

esto se inició el primer estudio clínico de fase 3 que requirió desarrollar una capacidad de reclutamiento de pacientes dentro del contexto de un estudio clínico multicéntrico (Estudio CHICO -SECURE). Con este fin, desde el Hospital de Niños R. Gutiérrez de Buenos Aires y centro colaborador en Chagas pediátrico OPS/OMS, se organizó la red multicéntrica para el estudio de enfermedad de Chagas pediátrica, PEDCHAGAS, compuesta por un grupo de expertos en pediatría, farmacología e investigación clínica con interés en la enfermedad de Chagas. Se incorporaron 15 centros en Argentina, 3 centros en Bolivia y 4 centros en Colombia. El desarrollo de una nueva formulación pediátrica mejorara la disponibilidad y el acceso al tratamiento en niños especialmente de los pacientes menores de 2 años de edad.

### **Validación del uso de pruebas rápidas para la detección de la infección por *T. cruzi* en territorios conurbanos: una propuesta para facilitar el acceso al diagnóstico de Chagas.**

Rivero Rocío, INP Fatala Chaben, Bs As, Argentina.

El Chagas es la antropozoonosis endémica más importante de la Argentina. Se calcula que dos terceras partes de las personas infectadas viven actualmente en zonas urbanas y se estima que a nivel mundial sólo el 10% lo sabe. El diagnóstico de la infección crónica requiere la realización de al menos dos pruebas serológicas con principios diferentes, lo que supone un reto logístico y económico, ocasionando que muchas veces el diagnóstico sólo se limite a los laboratorios de referencia. La atención primaria de salud (APS) puede atender entre el 80% y el 90% de las necesidades sanitarias de la población a lo largo de su vida. La Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2010, señaló la necesidad de buscar dispositivos de diagnóstico que permitan una rápida detección de la infección en el contexto de la APS. Desde entonces se han realizado estudios para evaluar el rendimiento de Pruebas de Diagnóstico Rápido (PDR) en diferentes

poblaciones. Las ventajas de estas pruebas son la no necesidad de operadores calificados, el resultado se obtiene en minutos y no se requiere refrigeración de reactivos. El desempeño de las PDR para la detección de la infección ha mostrado gran variabilidad (sensibilidad de 33 al 100% y especificidad del 94 al 99,9%) y la OMS las ha propuesto para tamizaje en terreno. Sin embargo, en un trabajo reciente se reportaron datos de sensibilidad de 97,7% y especificidad de 96,1% y los autores las proponen como alternativa a los métodos serológicos de diagnóstico. Iniciamos un proceso de validación del uso de PDR en el contexto de la APS que permita describir el desempeño de las mismas en el diagnóstico de la infección en población que habita en zonas conurbanas de Provincia de Buenos Aires. En el marco de las disponibilidades tecnológicas del sistema de salud, hipotetizamos que las PDR permiten aumentar el acceso al diagnóstico de Chagas, si son utilizadas en el marco de APS y se incluye la geolocalización y rastreo de casos sospechosos, permitiendo lograr un abordaje efectivo de la infección.

### **Desafíos en la acreditación de laboratorios de diagnóstico en el área de Parasitología**

Jercic María Isabel.

Sección Parasitología, Instituto de Salud Pública, Santiago de Chile, Chile.

La necesidad de contar con un sistema de gestión de la calidad implementado en los laboratorios clínicos, así como en los laboratorios de ensayo nace de la mano del concepto aseguramiento de la calidad. Este concepto lleva años de desarrollo y son muchas las publicaciones que entregan directrices para conseguir el reconociendo de ser entidades acreditadas bajo el paraguas de normas nacionales o internacionales.

El correcto desarrollo de los métodos de ensayo no solo implica seguir el procedimiento establecido tal como se estandarizó, sino que



requiere de un esfuerzo de la institución poniendo al servicio todo su capital que abarca desde la dirección técnica hasta el más pequeño eslabón de la cadena sobre la cual se trabaja.

La norma ISO N° 15.189 es la más empleada para la implementación de un sistema de aseguramiento en los laboratorios clínicos, ya que aborda requisitos para la calidad y la competencia. Como resultado final del proceso, algunas prestaciones o el laboratorio en su totalidad, obtendrán la “acreditación” que es el reconociendo entregado por un tercero de que se cumplieron los requisitos establecidos.

En el área de la Parasitología, si se busca el cómo obtener la acreditación de las prestaciones nos encontramos con escasa información, lo que nos lleva a que se deban adaptar las recomendaciones aplicadas en otras áreas como: Bacteriología, Virología, Hematología e Inmunología para la implementación del control interno requisito básico del aseguramiento. A lo anterior se suma, la escasa o nula oferta paneles de muestras o cepas certificados para validad o verificar ensayos, así como también los Programas de Control Externo de la Calidad para las prestaciones del área disponibles.

Lo anterior pareciera presentar un escenario poco alentador, pero no imposible de alcanzar, ya que cuando un laboratorio implementa un sistema de gestión de calidad y bajo este se desarrollan las prestaciones de Parasitología, la mayoría de los problemas se resolverán siguiendo las directrices establecidas y frente a dificultades las mismas normativas entregarán orientaciones de como presentarlas en el proceso de auditoría para lograr el certificado de acreditación.

# COMUNICACIONES ORALES



## Mesa Redonda 1: Inmunología y Patología

### COP-009

#### Predicción integral de epitopes T del parásito intracelular *Babesia bovis* mediante inmunopeptidómica.

Magali Valenzano<sup>1</sup>, Valeria Montenegro<sup>1</sup>, Martina Paoletta<sup>1</sup>, Robert Parker<sup>2</sup>, Morten Nielsen<sup>3</sup>, Ternette Nicola<sup>2</sup>, Wilkowsky Silvina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IABIMO, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Oxford, Oxford, United Kingdom. <sup>3</sup>INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS, Buenos Aires, Argentina

La Babesiosis bovina es una infección causada por los parásitos protozoarios *Babesia bovis* y *B. bigemina* los cuales desarrollan su ciclo vital en el bovino exclusivamente dentro del eritrocito. Ambas especies son transmitidas por garrapatas que habitan en el NOA y NEA y ocasionan importantes pérdidas económicas al sector ganadero. La infección por *Babesia* sp. puede controlarse a través de la vacunación con cepas atenuadas pero estas vacunas poseen una serie de desventajas en su producción y uso. Por esto, la identificación racional de epitopes T presentados por las células del hospedador bovino resulta fundamental para su inclusión futura en vacunas de diseño racional como alternativas superadoras a la vacuna viva atenuada. Con este objetivo se identificaron epitopes T presentados naturalmente en el complejo mayor de histocompatibilidad clase II bovino a partir de macrófagos derivados monocitos sanguíneos incubados con eritrocitos infectados con la cepa virulenta de *Babesia bovis* S2P. Pasadas 24 hs, se realizó la purificación de los complejos MHC II- péptido mediante inmunoprecipitación utilizando un anticuerpo monoclonal específico. Los péptidos T fueron posteriormente eluidos y analizados por espectrometría de masas. Con el set de datos obtenido, se eliminaron aquellos péptidos que se encontraron también el control de

macrófagos con eritrocitos normales, los péptidos que presentaron homología con el bovino y aquellos con largo menor a 12 aa. Como resultado, se obtuvieron 48 péptidos específicos presentes en el proteoma predicho de *B. bovis*. Los mismos corresponden a 20 proteínas, principalmente mitocondriales, ribosomales, de membrana y del apicoplasto. Finalmente, los péptidos encontrados se validarán por citometría de flujo y ELISPOT midiendo la liberación de IFN-g por parte de linfocitos T de bovinos infectados con *B. bovis* para confirmar su rol funcional en la respuesta tipo Th1 contra este patógeno y su potencial para ser incluidos en vacunas multiepitópicas.

### COP-019

#### Exosomes released by macrophages contacting *Trypanosoma cruzi* attenuated or virulent strains deliver a different immunological message.

Andrea C. Mesías<sup>1</sup>, Leonardo Acuña<sup>2</sup>, Cecilia Pérez Brandán<sup>2</sup>, Valeria Tekiel<sup>3</sup>, Cecilia Parodi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IPE, CONICET-UNSA, Salta, Argentina. <sup>2</sup>UBIPRO, IPE, CONICET-UNSA, Salta, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, EByN, UNSAM-CONICET, General San Martín, Argentina

Once a pathogen has overthrown the first defense barriers, a plethora of communication events operates at different layers to orchestrate an effective immune response. Extracellular vesicles (EVs) are indeed one key mechanism to re-transmit and amplify a message toward distal immune cells. Among the EVs diversity, exosomes are 50-150 nm vesicles originated from multivesicular bodies able to deliver cargos across long distances in a tightly regulated manner. Here we proposed to decode the message transmitted by exosomes produced by antigen-presenting cells in contact with infective *Trypanosoma cruzi* forms toward other naïve macrophages. With this purpose in mind, we have purified exosomes released by RAW

264.7 macrophages after their interplay with TCC or CL Brener (CLB) parasite strains. Our preliminary results showed that vesicles obtained from TCC- or CLB-infected cells trigger very different cytokine expression on the recipient cells. Macrophages stimulated with exosomes harvested from TCC-infected cells produced higher TNF- $\alpha$  release than those stimulated with EVs from CLB-infected cells, whereas an opposite response was observed for the secretion of regulatory cytokine IL-10. Further, the phagocytic function of the recipient cells was significantly diminished after stimulation with exosomes from TCC-infected macrophages. In an attempt to comprehend the different messages delivered, the protein cargo of exosomes was analyzed by a proteomic approach. The results showed a very distinct protein profile for these EVs subsets, considering both host and parasite origin assignments. So far, our findings suggest that macrophages which have faced *T. cruzi* entrance –either by infection or active phagocytosis– deliver a markedly different message to other naïve cell, depending on the parasite strain involved. Forthcoming experiments will help us understand how these messenger exosomes could impact on the host defense.

## COP-020

### Evaluación del fenotipo y la función de las células naturales asesinas circulantes en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.

María A. Natale<sup>1</sup>, Florencia Zabaleta<sup>1</sup>, Josefina Elías<sup>1</sup>, María G. Alvarez<sup>2</sup>, Flavio T. Comte<sup>2</sup>, Máximo Carrega<sup>2</sup>, Enrique Morral<sup>2</sup>, Gonzalo Cesar<sup>1</sup>, María C. Albareda<sup>1</sup>, María B. Caputo<sup>1</sup>, Bruno E. Lococo<sup>2</sup>, Susana A. Laucella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatale Chaben, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón, Buenos Aires, Argentina

La enfermedad de Chagas es la enfermedad parasitaria de mayor impacto en América Latina

y la causa más común de miocarditis infecciosa en el mundo. Se ha demostrado que la infección persistente por *Trypanosoma cruzi* induce el agotamiento de la respuesta celular, particularmente de células T. Las células naturales asesinas (NK) son componentes del sistema inmune innato que podrían ejercer funciones reguladoras sobre las células T y por lo tanto, emergen como moduladores potenciales de las respuestas de células T específicas para *T. cruzi* en la fase crónica de la infección. En el presente estudio, se evaluaron los niveles, el fenotipo y la función de las células NK en pacientes con enfermedad de Chagas crónica con diferentes grados de disfunción cardíaca. La expresión de marcadores de activación (NKG2D y NKP46), inhibición (NKG2A y KIR2D), inmadurez (CD127), memoria (CD57) y agotamiento (PD-1) se midió en subconjuntos de células NK CD56<sup>bright</sup> y CD56<sup>dim</sup> mediante citometría de flujo multiparamétrica usando células mononucleares de sangre periférica. Las células NK CD56<sup>bright</sup>CD16+/-, asociadas con una función reguladora, disminuyeron y las células NK CD56<sup>dim</sup>CD16+/-, consideradas como el subconjunto NK más citotóxico, aumentaron a medida que la enfermedad se agrava. La frecuencia de células NK CD56<sup>bright</sup>CD16+/- que expresan NKG2D y NKP46 disminuyó y la frecuencia de células CD56<sup>dim</sup>CD16+/- que expresan CD57 aumentó en pacientes infectados con *T. cruzi* sin signos de enfermedad cardíaca o con síntomas cardíacos leves. Los pacientes con miocardiopatía avanzada mostraron células NK con una alta función citotóxica pero una menor producción de IFN- $\gamma$  e IL-10. Estos hallazgos respaldan que el deterioro de la función T específica para *T. cruzi* observado en las etapas clínicas más avanzadas de la enfermedad podría compensarse con una alta actividad citotóxica de las células NK ayudaría a controlar la infección, pero con la inducción de daño tisular.

**COP-075****Respuesta inmune humoral en ratones BALB/c frente antígenos de *Tritrichomonas foetus* con diferentes adyuvantes.**

Maximiliano David Maldonado<sup>1</sup>, María Belén Rivero<sup>2,3</sup>, Bibiana Julieta Volta<sup>1,3</sup>, David Di Lullo<sup>2</sup>, Bruno Elías Luna<sup>2</sup>, Juan Martín Castellanos<sup>1</sup>, Lucía Alejandra López<sup>2,3</sup>, María Eugenia Abdala<sup>2,1,3</sup>, Rodrigo D Calloni<sup>4</sup>, Fernando David Rivero<sup>2,1,3</sup>, Sergio A Guerrero<sup>4</sup>, Pedro Gabriel Carranza<sup>2,1,3</sup>

<sup>1</sup>FAYA-UNSE, Santiago del Estero, Argentina. <sup>2</sup>LaBIM-IMSaTeD (CONICETT-UNSE), Santiago del Estero, Argentina. <sup>3</sup>FCM-UNSE, Santiago del Estero, Argentina. <sup>4</sup>Laboratorio de Enzimología Molecular- IAL (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina

La “Tricomonosis Bovina” (TB), es una enfermedad de transmisión sexual con distribución mundial ocasionada por el protozooario *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*). La infección cursa con falla reproductiva, siendo endémica en países con ganadería extensiva y servicio natural como el nuestro. La TB permanece subdiagnosticada debido a que faltan herramientas que faciliten el diagnóstico temprano, generando importantes pérdidas económicas cuando se instala en un rodeo. Con la intención de mejorar las herramientas diagnósticas, estamos trabajando en el desarrollo de nuevos kits diagnósticos rápidos y de fácil utilización basados en la interacción antígenos-anticuerpo. Uno de los elementos fundamentales para estos son los anticuerpos mono y/o policlonales. El objetivo de este trabajo fue estudiar la respuesta inmune humoral en un modelo murino, frente a antígenos de superficie de *Tritrichomonas foetus*, utilizando diferentes adyuvantes por vía parenteral para determinar el mejor perfil de anticuerpos generados. Para ello se inmunizaron ratones BALB/c con trofozoítos de *T. foetus* fijados con o sin el agregado de adyuvantes, como el de Freund’s, hidróxido de aluminio y paramilón. Los niveles de anticuerpos se analizaron mediante ELISA a partir de los sueros

obtenidos. Se caracterizó la localización de la marca de los anticuerpos generados en cada condición por Inmunofluorescencia. Si bien todos los adyuvantes mostraron altos niveles de anticuerpos, llama la atención que los trofozoítos fijados sin adyuvantes generan una excelente respuesta. Estos resultados nos permiten de manera estratégica continuar con el desarrollo de anticuerpos mono y policlonales, pero también abre un camino para el estudio de antígenos de *T. foetus* como potencial uso como adyuvantes.

**Mesa Redonda 2: Epidemiología y Vectores****COP-023****Estrategia educativa de aprendizaje de Chagas mediante el uso de las TICs.**

María Laura Bizaj, Verónica Olivera, Evelyn Arias, Santiago Suasnábar, Diana Fabbro

Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales- Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas-Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

La OMS/OPS considera la formación de recursos humanos como uno de los pilares fundamentales para la prevención, control y atención de la infección por *Trypanosoma cruzi*.

Las Tecnologías de la Información y la Comunicación (TICs) son los recursos y herramientas que se utilizan para el proceso, administración y distribución de la información a través de elementos tecnológicos como: computadoras, celulares, televisores, etc.

Desde la materia optativa “Enfermedad de Chagas, una visión Integral”, destinada a los alumnos de Cuarto año de la Carrera de Bioquímica, propusimos la elaboración de una producción audiovisual utilizando las TICs. El objetivo fue difundir conocimiento sobre Chagas

a diferentes poblaciones (educativas, profesionales, población en general y etnias). Sus producciones fueron evaluadas en originalidad, pertinencia y contenido.

A partir de esta propuesta, los alumnos generaron una diversidad de trabajos para el cual necesitaron tener conocimientos y conceptos muy claros previos a su elaboración. Las presentaciones consistieron en: una canción; entrevistas callejeras en población general; cuento en lenguaje de señas; folletos interactivos; chats de whatsapp; cortos radiales; juego de preguntas y respuestas.

El uso de las TICs como propuesta de trabajo fue motivador del conocimiento y el motor para que la imaginación hiciera su obra; surgieron presentaciones muy ricas y originales, expresiones de arte. La apropiación del conocimiento a través de la expresión artística fue muy eficaz e innovadora para afianzar conceptos y difundirlos hablando de Chagas.

### COP-033

#### **Mapeo de riesgo de la Enfermedad de Chagas en las comunidades de Pajcha y Tin Tin del departamento de Cochabamba-Bolivia.**

Bronsson George Hinojosa García, Claudia Terrazas Maldonado, Karen Cristina Ovando Crespo, Nora Medrano Mercado

Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia, Plurinational State of

La enfermedad de Chagas, una infección parasitaria desatendida, de particular preocupación por causar complicaciones cardíacas, gastrointestinales. El COVID-19 ha afectado y está afectando a quienes viven en los márgenes sociales, es particularmente grave en las personas mayores y en aquellas con ciertas condiciones de salud subyacentes, actualmente en su quinta ola, ha generado impactos negativos en nuestro país. El objetivo del presente proyecto es diagnosticar la

enfermedad de Chagas y obtener mapas de riesgo como herramienta de vigilancia epidemiológica en nuestras comunidades. A principios de este año 2022, se ha hecho una visita a la comunidad de Pajcha, comunidad del Valle alto de Cochabamba, se capturo 100 triatomos (Vinchucas) localizados en el intra y peridomicilio, 75% portaban el *Trypanosoma cruzi*, se obtuvieron muestras biológicas de cinco personas, al análisis inmunoserológico por Inmuncromatografía y ELISA, se encontraron anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* y al análisis por xenodiagnóstico, se identificó la presencia de *Trypanosoma cruzi* en las 5 personas. Se obtuvieron 86(100%) de muestras de comunarios de Tin Tin, 77% son seropositivos, 58% son mujeres y 42% son varones. A través del análisis espacial multicriterio se ha identificado áreas de riesgo según las características del área de estudio. En Conclusión: Los resultados indican un alto riesgo de transmisión del parásito de la enfermedad de Chagas en nuestras comunidades debido al confinamiento por la pandemia del COVID 19 y la ausencia de campañas de fumigación contra los vectores en este periodo, situación muy preocupante para los países endémicos en enfermedades prevalentes como la enfermedad de Chagas.

### COP-034

#### **Caracterización de la microbiota de *Triatoma infestans* en poblaciones de campo y laboratorio.**

Natalia P Macchiaverna<sup>1</sup>, Eva Figuerola<sup>2</sup>, M Victoria Cardinal<sup>1</sup>, Gustavo F Enriquez<sup>1</sup>, M. Sol Gaspe<sup>1</sup>, Alejandra Alvedro<sup>1</sup>, Raquel Parada-Puig<sup>3</sup>, Marcos Schiopetto<sup>3</sup>, Florencia M Dipp<sup>3</sup>, Juan Burgos<sup>3</sup>, Juan S Mucci<sup>3</sup>, Maria de los Milagros Camara<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Eco-Epidemiología. CONICET-Universidad de Buenos Aires, Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEB), Buenos Aires, Argentina, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Traslacional iB3-FCEN-UBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Escuela de Bio y Nanotecnologías (EBYN),

Universidad Nacional de San Martín - CONICET, San Martín, Argentina

Recientemente se ha caracterizado la microbiota de diversos artrópodos y su rol en la transmisión de patógenos a diversos hospedadores. En *Rhodnius prolixus*, vector de *Trypanosoma cruzi* se ha determinado que la presencia de determinadas cepas de *Serratia marcescens* tendrían un efecto letal sobre la cepa de Y de *T. cruzi*. En base a estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo es caracterizar y comparar la microbiota de diferentes poblaciones de *Triatoma infestans*, principal vector en países del Cono Sur, con el fin último de comprender con mayor detalle la interacción entre *T. cruzi* y este hospedador invertebrado. Se utilizaron ninfas de V estadio de *T. infestans* colectadas en viviendas rurales de los municipios de Castelli y Pampa del Indio, Chaco, en el marco de un programa de control vectorial. La población de insectos criados en laboratorio pertenece al Centro de Criadero de Vectores de Punilla, Córdoba. Para el análisis de la microbiota se extrajo el tracto digestivo entero, se purificó el ADN total y se realizó un análisis de metagenómica en la región variable V3-V4 del ARNr 16S. Los análisis de diversidad alfa y beta permitieron establecer que existen diferencias entre las muestras de campo entre sí y con respecto a las muestras de criadero. El análisis reveló que las muestras de campo presentan mayoritariamente bacterias del género *Dietzia* en un 50%, *Pseudomonas* (7%), *Mycobacterias* (7%), *Actinobacteria* (4%), *Sphingomonadaceae* (6%) y *Arsenophonus* (4%) Mientras que las muestras de criadero presentaron un 63% bacterias del género *Arsenophonus*, *Pseudomonas* (9%), *Sphingomonadaceae* (7%), *Actinobacteria* (5%) y *Mycobacterias* (3%). La menor diversidad de las muestras de criadero puede ser consecuencia de las fuentes de alimentación durante la cría. Estos resultados muestran la importancia de incluir la diversidad de la microbiota en diferentes poblaciones del vector para evaluar su rol en la transmisión de *T. cruzi*.

## COP-092

### Estudio de factores de riesgo perinatales involucrados en la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas a partir de una cohorte de gestantes con enfermedad de Chagas crónica asistidas en el Hospital Público Materno Infantil de Salta.

Emiliano Emanuel Campos<sup>1,2,3</sup>, Carolina Davies<sup>1</sup>, Adriana Falco<sup>4</sup>, Mirtha Schamun<sup>4</sup>, Marcela Andrea Silveti<sup>5</sup>, M. Paola Zago<sup>3,1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología Experimental, Salta, Argentina. <sup>2</sup>Servicio de Medicina Interna. Hospital Público Materno Infantil, Salta, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de biología molecular y citogenética, Salta, Argentina. <sup>4</sup>Servicio de infectología y epidemiología. Hospital Público Materno Infantil, Salta, Argentina. <sup>5</sup>Servicio de neonatología. Hospital Público Materno Infantil, Salta, Argentina

Introducción: la enfermedad de Chagas es una antroponosis que genera serios problemas para la salud pública. Presenta múltiples vías de transmisión: vectorial, transfusional y vertical. En aquellos lugares donde los programas de control vectorial y de bancos de sangre son efectivos, la transmisión vertical de la enfermedad adquiere mayor relevancia. No obstante, el cumplimiento del algoritmo diagnóstico necesario para confirmar o descartar la enfermedad en el lactante varía entre el 5% y el 50% lo que motiva la ejecución de investigaciones que contribuyan a optimizarlo. Objetivo: determinar factores de riesgo perinatales involucrados en la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas. Métodos: en una cohorte de mujeres con pruebas serológicas positivas (HAI y ELISA) para infección por *Trypanosoma cruzi* se estudiaron variables clínicas, obstétricas y bioquímicas, calculándose el riesgo relativo (IC 95 %) para transmisión vertical en las distintas variables y realizándose asociaciones estadísticas mediante test de Chi2 para las variables cualitativas (p value= <0,05). Resultados: de las 96 pacientes que ingresaron al

estudio, 12 (12,5 %) tuvieron transmisión vertical confirmada. Aquellas con PCR detectable durante el tercer trimestre tuvieron 10.83 (IC 95%= 4,4 a 21.3) veces más riesgo de transmitir la enfermedad con  $\chi^2$  ( $p=0.0002$ ), las que tuvieron una transmisión previa a otro hijo alcanzaron 8.5 (IC 95%= 3,2 a 18,6) veces más riesgo con  $\chi^2$  ( $p=0.0010$ ), el haber tenido una alteración durante el parto aumentó 3.37 (IC 95%= 1.6 a 6.2) veces el riesgo de transmisión con  $\chi^2$  ( $p=0.004$ ) y las que tuvieron un título de anticuerpos superior a 1/128 por HAI el riesgo aumentó a 1.46 (IC 95%= 1.18 a 1.92) veces con  $\chi^2$  ( $p=0.0008$ ). Conclusión: Estos resultados son concordantes con otras investigaciones e intentan aportar datos que contribuyan a la elaboración de algoritmos diagnósticos basados en el enfoque de riesgo para optimizar el control de esta enfermedad.

## COP-096

### **Tripanosomiasis humanas atípicas: ¿*Trypanosoma lewisi* está presente en las ratas sinantrópicas (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*) de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y alrededores?**

Ricardo J Abello<sup>1,2</sup>, Laura M Tasso<sup>3</sup>, Luciana L Soprano<sup>3</sup>, M Soledad Santini<sup>3</sup>, Rosana E Alves<sup>1,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>Escuela Superior de Ciencias de la Salud, Medicina, Univ de Morón, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatała Chaben”, ANLIS-Malbrán, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales, Bioquímica, Univ de Morón, Argentina. <sup>5</sup>Hospital General de Agudos “Dr. José María Penna”, Buenos Aires, Argentina. <sup>6</sup>Hospital Zonal General de Agudos “Héroes de Malvinas”, Merlo, Argentina.

A la fecha y a nivel mundial, los casos reportados de tripanosomiasis humanas atípicas causados por *T. lewisi* y *T. lewisi*-like, ascienden a siete y tres respectivamente. Las infecciones provocadas por *T. lewisi* en el hombre se

encontraron estrechamente vinculadas a la presencia de grandes poblaciones de ratas sinantrópicas en el entorno de la vivienda. Siendo los niños lactantes el principal grupo humano en riesgo. Inicialmente el diagnóstico se realizaba por la identificación morfológica de los tripanosomátidos presentes en el frotis sanguíneo y se confirmaba por inoculación de la sangre sospechosa en ratas jóvenes. Hoy la confirmación se realiza por PCR complementada con secuenciación de amplicones. Este hemoflagelado posee un ciclo de vida indirecto. El hospedador vertebrado del género *Rattus* (*R. norvegicus*, y *R. rattus*), infectado con *T. lewisi*, presenta tripomastigotes sanguíneos, sin desarrollar enfermedad parasitaria, oficiando de reservorio del parásito en ámbitos urbanos y domiciliarios. El insecto vector, la pulga de la rata (*Ceratophyllus fasciatus*, *Nosopsyllus fasciatus*, *Xenopsylla cheopis*) se infecta mientras ingieren sangre de los roedores infectados y en el intestino posterior se completa el ciclo. La forma infectante para el hospedero mamífero es el tripomastigote metacíclico que se elimina junto con las heces de la pulga. La vía de transmisión es vectorial y de sección stercoraria, por contaminación fecal de soluciones de continuidad en la piel, o de la conjuntiva ocular o mucosas. Existen numerosos reportes de la presencia de *T. lewisi* en poblaciones de ratas sinantrópicas en países Latinoamericanos y en el mundo. La prevalencia de *T. lewisi* en poblaciones de ratas en nuestro país no se encuentra reportada aún. Con el propósito de determinar la presencia de *T. lewisi* en ratas de las cercanías de CABA, se realizará un estudio de prevalencia en la localidad de Morón a través de una colaboración entre la Universidad de Morón y el INP.



## Mesa Redonda 3: Biología Molecular y Celular

### COP-005

#### Aislados de *Trypanosoma cruzi* naturalmente adaptados a la transmisión vertical muestran una estrategia única de pasaje transplacentario.

Paula Faral-Tello<sup>1,2</sup>, Gonzalo Greif<sup>1</sup>, Selva Romero<sup>3</sup>, Andrés Cabrera<sup>1</sup>, Cristina Oviedo<sup>3</sup>, Telma González<sup>3</sup>, Gabriela Libisch<sup>1</sup>, Ana Paula Arévalo<sup>4</sup>, Belén Varela<sup>5</sup>, José Manuel Verdes<sup>5</sup>, Martina Crispo<sup>4</sup>, Yester Basmadjján<sup>3</sup>, Carlos Robello<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Interacciones Hospedero Patógeno, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Departamento de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina UDELAR, Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Unidad de Biotecnología en Animales de Laboratorio; Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>5</sup>Unidad de Patología, Facultad de Veterinaria UDELAR, Montevideo, Uruguay

En los últimos años, la transmisión vertical (TV) de *Trypanosoma cruzi* ha ganado peso en la incidencia global de la enfermedad de Chagas debido al control vectorial en zonas endémicas, y al aumento de la enfermedad en países no endémicos. Cómo ocurre la transmisión vertical es aún desconocido debido a la limitación en los modelos animales y la ausencia de aislados naturales provenientes de TV en los laboratorios. En este trabajo de investigación aislamos tres cepas de *T. cruzi* de casos cuya historia clínica indica que han sido transmitidas verticalmente al menos durante tres generaciones y procedimos a caracterizarlas. No se detectó parasitemia en ratones inmunocompetentes infectados con estas cepas, pero las mismas inducen una fuerte respuesta inmune sistémica y colonizan distintos órganos. En modelo murino de transmisión transplacentaria, los resultados indican que las cepas de TV presentan un perfil poco virulento,

pero conservan la capacidad de infectar el tejido placentario y de alcanzar los fetos con mayor probabilidad que cepas más virulentas. Utilizando transcriptómica, observamos que mientras la cepa virulenta modula más de 2500 genes placentarios, las cepas de TV modulan solo 150 y que ninguno de ellos es compartido. Las cepas de TV inducen la disminución en la expresión de genes asociados a división celular y aumentan la expresión de genes inmunomodulatorios asociados a respuesta anti-inflamatoria y tolerancia, contraria a la respuesta de las placentas infectadas con la cepa virulenta en donde predomina una fuerte respuesta pro-inflamatoria. En este trabajo describimos por primera vez una estrategia de pasaje transplacentario que es cepa dependiente que involucra baja virulencia, poca estimulación génica y baja inducción de respuesta inmune, beneficiosa para el parásito ya que resulta en un aumento en la tasa de transmisión vertical comparada con la TV de cepas más virulentas.

### COP-014

#### Desarrollo de una plataforma biomimética para el estudio de la captación de glóbulos rojos infectados con *Plasmodium Falciparum* en el bazo.

Emilia Belén Sousa<sup>1</sup>, Nicolás Andrés Saffioti<sup>2</sup>, Cora Álvarez<sup>1</sup>, Pablo Schwarzbaum<sup>1</sup>, Diego Pallarola<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas (IQUIFIB)), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Nanosistemas - Universidad Nacional de San Martín, San Martín, Argentina

*Plasmodium falciparum* es uno de los agentes etiológicos de la malaria, y realiza parte de su ciclo de vida dentro de los glóbulos rojos humanos (GRs). Los GRs infectados por el parásito (GRi) son capturados en la pulpa roja del bazo donde los vasos sanguíneos poseen pequeñas fenestraciones que retienen a los GRs poco deformables. El mecanismo por el cual los GRi son captados en el bazo no se ha

comprendido totalmente. Por este motivo implementamos una estrategia biomimética utilizando un chip de microfluídica que imita las características de la circulación del bazo [1] y que permite estudiar la retención mecánica de GRi con un alto grado de control sobre las variables experimentales. Se fabricó un chip de microfluídica en polidimetilsiloxano que posee canales de 5  $\mu\text{m}$  de altura y pequeñas angosturas de 5, 4, 3 y 2  $\mu\text{m}$  que imitan las fenestraciones del bazo. Los GRs se cargaron con el colorante fluorescente BCECF-AM y se inyectaron en el chip a un hematocrito de 0.05%. El número de células retenidas en las angosturas del chip se determinó por microscopía de epifluorescencia. Se estudió el efecto de un tratamiento térmico que disminuye la deformabilidad de los GRs (incubación a 45 °C durante 20 minutos) y el efecto de la infección con *P.falciparum* sobre la retención en el chip. Nuestros resultados indicaron que el tratamiento térmico aumentó el número de GRs retenidas en angosturas de 3  $\mu\text{m}$  de ancho ( $9.13 \pm 2.7$  contra  $4.13 \pm 1.14$  GR por chip). Por otro lado, experimentos preliminares con GRi infectados con *P. falciparum* en estado de trofozoíto poseen al menos 4 veces más chances de ser retenidas en las angosturas que los GR no infectados. Nuestros resultados sugieren que el uso de chips de microfluídica permite reproducir la retención de GRi observada in vivo. Futuros experimentos explorarán cómo el estadio madurativo del parásito en el GRi influencia su retención en el sistema biomimético. 1. Picot, J., et al. (2015) Am. J. Hematol., 90(4), 339-345

## COP-021

### APROXIMACIÓN AL ESTUDIO DEL MECANISMO DE ACCIÓN DE COMPUESTOS ORGANOMETÁLICOS CONTRA *Trypanosoma cruzi*.

Florencia Mosquillo<sup>1</sup>, Gonzalo Scalese<sup>2</sup>, Ignacio Machado<sup>3</sup>, Dinorah Gambino<sup>2</sup>, Leticia Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Área Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Área de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

El protozoo patógeno *Trypanosoma cruzi* es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas. A más de 100 años del descubrimiento de esta enfermedad los fármacos empleados presentan limitaciones, contraindicaciones y efectos secundarios que disminuyen la efectividad y la continuidad del tratamiento, por lo que existe una necesidad urgente de desarrollar nuevos medicamentos. En trabajos previos, aplicamos herramientas ómicas para determinar los efectos de dos nuevos compuestos organometálicos con actividad tripanocida, nombrados Pd-dppf-mpo y Pt-dppf-mpo. Mediante RNA-seq y proteómica shotgun, se encontró que los transcritos y proteínas modificadas estaban principalmente involucrados en el metabolismo proteico, transporte transmembrana, defensa oxidativa y la ruta del ergosterol. Con esta información se seleccionaron candidatos a blancos moleculares pertenecientes a la vía del ergosterol, ya que más de la mitad de los pasos de la vía se observaron significativamente disminuidos en su expresión. Fueron entonces seleccionados los genes codificantes para las enzimas fosfomevalonato quinasa y lanosterol 14- $\alpha$  demetilasa. Para verificar la participación de esta vía en la respuesta a los compuestos se cuantificaron los productos escualeno, lanosterol y ergosterol mediante HPLC en presencia y ausencia de compuesto. Se observa una leve acumulación de escualeno en epimastigotas tratados con distintas concentraciones de los compuestos. También se observa la acumulación de lanosterol, que podría ser causado por la incapacidad de la enzima lanosterol 14- $\alpha$  demetilasa para metabolizarlo. En este sentido, se observa que el producto final, ergosterol disminuye de forma estadísticamente significativa, demostrando que la vía se encuentra afectada. Para ampliar y

validar estos candidatos a blancos moleculares actualmente trabajamos en la generación de parásitos que los sobreexpresen, con el fin de avanzar en el entendimiento del mecanismo de acción de estos prometedores compuestos.

## COP-094

### Caracterización de una nueva esteroles C-22 desaturasa del ciliado *Tetrahymena thermophila*.

Luz Sanchez Granel<sup>1</sup>, Nicolas Siburu<sup>2</sup>, Anna Friczka<sup>1</sup>, Lucas Maldonado<sup>3</sup>, Laura Gargiulo<sup>1</sup>, Clara Nudel<sup>1</sup>, Antonio Uttaro<sup>2</sup>, [Alejandro Nusblat](#)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Nanobiotecnología, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Universidad Argentina de la Empresa (UADE), CABA, Argentina

Sterols in eukaryotic cells play important roles in modulating membrane fluidity and in cell signaling and trafficking. During evolution, a combination of gene losses and acquisitions gave rise to an extraordinary diversity of sterols in different organisms. The sterol C-22 desaturase identified in plants and fungi as a cytochrome P-450 monooxygenase evolved from the first eukaryotic cytochrome P450 and was lost in many lineages. Although the ciliate *Tetrahymena thermophila* desaturates sterols at the C-22 position, no cytochrome P-450 orthologs are present in the genome. Here, we aim to identify the genes responsible for the desaturation as well as their probable origin. We used gene knockout and yeast heterologous expression approaches to identify two putative genes, retrieved from a previous transcriptomic analysis, as sterol C-22 desaturases. Furthermore, we demonstrate using bioinformatics and evolutionary analyses that both genes encode a novel type of sterol C-22 desaturase that belongs to the large Fatty Acid Hydroxylase/Desaturase superfamily, and the genes originated by genetic duplication prior to functional diversification. These results stress the widespread existence of non-homologous

isofunctional enzymes among different lineages of the tree of life as well as the suitability for the use of *T. thermophila* as a valuable model to investigate the evolutionary process of large enzyme families.

## Mesa Redonda 4: Diagnóstico y Tratamiento

### COP-053

### EVALUACIÓN DE UN KIT DIAGNOSTICO MOLECULAR BASADO EN LAMP PARA LA COPRO-DETECCIÓN DE ADN DE *Toxocara canis* y *T. cati*.

[Maria Lorena Ogas Castells](#)<sup>1</sup>, Héctor Gabriel Avila<sup>2,3</sup>, Verónica Perez<sup>4</sup>, Adrián Vojnov<sup>1</sup>, Victoria Periago<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup>ICT Milstein - CONICET, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio Provincial de Zoonosis de San Juan, San Juan, Argentina. <sup>3</sup>CONICET, San Juan, Argentina. <sup>4</sup>Sección de Rabia y Zoonosis, Min. Salud Pública de San Juan, San Juan, Argentina. <sup>5</sup>Fundación Mundo Sano, CABA, Argentina. <sup>6</sup>CONICET, CABA, Argentina

Las reacciones de amplificación isotérmica del ADN (LAMP) emplean de 4 a 6 primers que reconocen distintas regiones de un pequeño fragmento central, otorgando especificidad para dicha secuencia. Estas reacciones emplean una ADN-polimerasa capaz de separar la doble cadena de ADN, por lo que la reacción ocurre a una única temperatura. Durante la amplificación se generan estructuras secundarias en forma de bucles que sirven como templado para comenzar nuevos ciclos de amplificación, aumentando la sensibilidad de la técnica. En el año 2021, Avila y col., desarrollaron una reacción de LAMP para la detección simultánea de *Toxocara canis* y *T. cati*, con elevada sensibilidad y especificidad analítica. En el presente trabajo se evaluó la sensibilidad y especificidad analítica de un prototipo de kit diagnóstico que simplifica la

detección molecular y puede ser observada a ojo desnudo como un cambio de color. El kit utiliza tubos sensibilizados con una mezcla de primers y colorante, el resto de los componentes de reacción se presentan como una solución estable a 2-8°C. Se determinaron los tiempos de reacción y temperatura óptima como 58 °C y 90 min. La sensibilidad analítica fue evaluada con diluciones seriadas de ADN genómico de las dos especies siendo el límite de detección 10 fg para ambos. La especificidad analítica fue analizada con ADN genómico de otros parásitos, bacteriano, canino y felino y no se observaron reacciones cruzadas. La evaluación clínica se realizó con 150 muestras de zonas endémicas donde se compararon los resultados de LAMP con microscopía y PCR. Este kit puede emplearse en laboratorios de baja complejidad permitiendo su uso en zonas endémicas con equipamiento básico como una heladera y un baño termostático.

## COP-055

### **Caracterización y seguimiento de poblaciones naturales de *Trypanosoma cruzi* refractarias al tratamiento etiológico en pacientes con enfermedad de Chagas oral.**

Arturo Muñoz-Calderón<sup>1</sup>, Zoraida Díaz-Bello<sup>2</sup>, José Luis Ramírez<sup>3</sup>, Belkisyolé Alarcón de Noya<sup>2</sup>, Alejandro G. Schijman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas (INGEBI-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Sección de Inmunología - Instituto de Medicina Tropical - UCV, Caracas, Venezuela, Bolivarian Republic of. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología, Fundación IDEA, Caracas, Venezuela, Bolivarian Republic of

La transmisión oral de la enfermedad de Chagas (EChO) en Venezuela fue descrita por primera vez en 2007 en niños en edad escolar. A diferencia de otras poblaciones con EChO, el tratamiento fracasó en un 50% de los casos. Este fracaso puede atribuirse a características

genéticas de las poblaciones de *T. cruzi* circulantes. Estudios previos han detectado aislados parasitarios naturalmente resistentes a Nifurtimox y Benznidazol. En este contexto, planteamos caracterizar parámetros genéticos de *T. cruzi* relacionados con resistencia farmacológica en muestras clínicas de pacientes refractarios al tratamiento. Partiendo de muestras de sangre y/o hemocultivos de treinta pacientes (antes del tratamiento y a lo largo de nueve años Post-Tx), se realizaron los siguientes estudios: 1. Medición de cargas parasitarias mediante qPCR-dúplex, 2. Identificación de firmas moleculares de minicírculos (*FM*) y 3. Secuenciación de los genes *Tcntr-1*, *Tcoye* y *Tcacr*, relacionadas con fenotipos de resistencia farmacológica. Encontramos diferencias significativas entre las cargas parasitarias Pre y Post-tratamiento. Adicionalmente, observamos variabilidad intra-DTU-I en las *FM* y en los tres genes evaluados, lo que indicaría una fuente de infección policlonal. Ninguna firma de minicírculos Post-Tx, fue idéntica a su población homóloga Pre-Tx, revelando selección poblacional a partir de la infección primaria. Las secuencias de genes *Tcntr-1*, *Tcoye* y *Tcacr* en algunas muestras (sangre o hemocultivos) presentaron polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) o marcos de lectura desplazados, dando lugar a posibles proteínas truncadas. En conclusión, la escasa respuesta farmacológica de los pacientes evaluados podría asociarse, al menos parcialmente, a una fuente de infección con parásitos naturalmente resistentes. Estos datos promueven estudios de epidemiología molecular de las poblaciones naturales de *T. cruzi* que aporten al diseño de pautas terapéuticas eficaces para una zona geográfica determinada.

**COP-071****Test rápido de IgM para el diagnóstico de Chagas vertical: prueba del antígeno SAPA de *Trypanosoma cruzi* como candidato para la detección.**

Agustina Olaguibe<sup>1</sup>, Luz Peverengo<sup>1</sup>, Luz Rodeles<sup>2</sup>, Anahí Díaz<sup>3</sup>, Patricio Diosque<sup>3</sup>, Claudio Berli<sup>4</sup>, Iván Marcipar<sup>1</sup>, Nazarena Pujato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB-UNL), Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral (FCM-UNL), Santa Fe, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Patología Experimental, CONICET, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina. <sup>4</sup>Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC)-CONICET, Santa Fe, Argentina

La transmisión vertical es la principal vía de contagio de la enfermedad de Chagas en áreas libres del vector. Puede prevenirse mediante el tratamiento temprano de los niños infectados; sin embargo, las barreras de accesibilidad a los servicios de salud y las limitaciones del diagnóstico actual demoran la confirmación del resultado y propensan la pérdida de pacientes. Nuestro grupo de trabajo ha desarrollado previamente un ELISA de captura de IgM para el diagnóstico de Chagas vertical (CHv) con resultados prometedores. Un nuevo desafío es lograr un test rápido que asegure accesibilidad y precocidad diagnóstica, contribuyendo a mejorar la vigilancia y control de esta vía de transmisión. A pesar de que los test rápidos han mostrado ser de gran utilidad en contextos de vulnerabilidad social, no existe ninguno para CHv. En el marco de este trabajo desarrollamos un prototipo preliminar de inmunocromatografía de flujo lateral (IFL) para la determinación de IgM específica contra *Trypanosoma cruzi* (Tc), utilizando el antígeno SAPA del parásito, el cual no está estudiado para dicho fin. Este IFL involucra un anti-IgM humana conjugada a partículas de oro coloidal (GNPs), SAPA en la línea de test y un anticuerpo anti-

conjugado en la línea control. El test se probó frente a sueros de neonatos (n=24) con diagnóstico por PCR positivo (n= 14) o negativo (n= 8) para CHv. Para la determinación se siembran 100µl de la muestra (1/10) en la tira reactiva y, luego de 30 min de corrida, se adicionan 50 µl de una solución de plata-hidroquinona para mejorar la intensidad de la señal. El IFL clasificó correctamente 12 muestras positivas y 7 negativas, mostrando una correlación sustancial con el diagnóstico molecular:  $Kappa= 0,71$  (IC95%: 0,41-1,00),  $p<0,001$ ). La estrategia propuesta mostró potencialidad para el diagnóstico de CHv, pero se debe trabajar en optimizar la reacción de detección antes de avanzar hacia la evaluación del desempeño diagnóstico.

**COP-085****ENVIRONMENTAL ENRICHMENT TREATMENT IMPROVES SYSTEMIC RESPONSE IN A MURINE MODEL OF CHRONIC TOXOPLASMOSIS.**

Tadeo Amato, Florencia Andrés, Ignacio Fenoy, Valentina Martin, Vanesa Sánchez

Laboratorio de Inmunología Vacunas y Alergias (ITECA-CESyMA-ECyT-UNSAM), San Martin, Argentina

Currently, accumulated evidence links *T. gondii* chronic infection with different pathologies including neurological and cardiovascular implications. At the chronic stage of toxoplasmosis, tissue cysts are located mostly in SNC and muscles. There are no treatments able to eliminate these resistant structures or to reduce the adverse effects associated with the infection. We previously showed that environmental enrichment (EE) in chronic toxoplasmosis murine model improves cognition and behavior. Herein, we study the effect of EE as a non-invasive therapy against chronic toxoplasmosis and the effects at systemic level. **METHODS:** The EE therapy involves increasing the available space and the addition of novel elements in the habitat. C57BL/6 chronically

infected treated (TE) or untreated (T) mice were observed daily, the weights were registered weekly and tissue damage enzymes in blood were evaluated at the end of the trial as well as parasite load in the brain.

**RESULTS:** The results indicate that the EE treatment on infected mice improved the general appearance of animals and counteracted weight loss associated with infection (60 post infection days TE vs T;  $p=0,0161$ ). Indeed, TE mice showed less amount of the damage enzymes LDH present in blood plasma than T mice (up to 20% lower;  $p=0,0133$ ). Moreover, chronically infected treated mice showed a significantly better ratio heart weight vs total weight compared to the T group ( $p=0,0409$ ). All these data evidence that EE treatment improves systemic response to deal with the chronic infection. Nevertheless, TE brain parasite load was similar to T group.

**CONCLUSIONS:** This environmental enrichment therapy showed a positive impact at systemic level that added to the beneficial effects on behavior and learning shows its potential against chronic toxoplasmosis. This type of non-invasive therapy could be easy to incorporate into translational medicine approaches and helps to deal with the harmful effects of chronic toxoplasmosis.

## POSTERS



## Inmunología

### I-002

#### **Estudio *in silico* de la diversidad de la familia de Transialidasa empleada en vacunas experimentales contra *T. cruzi* y su potencial utilidad en vacunas humanas.**

Maria Florencia Pacini<sup>1</sup>, Adrián Perdomini<sup>2</sup>, Camila Bulfoni Balbi<sup>1</sup>, Brenda Dinatale<sup>1</sup>, Florencia Belén González<sup>1</sup>, Ana Rosa Pérez<sup>1,3</sup>, Ivan Marciar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER-CONICET), Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé, Argentina. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina

Las proteínas de la superfamilia (Sf) de la Transialidasa (TS) están entre los inmunógenos más prometedores en vacunas experimentales contra *T. cruzi*. Sin embargo, dicha Sf es muy heterogénea, lo que dificulta la comparación de la eficacia entre inmunógenos aparentemente similares. Esta dificultad aumenta si se tienen en cuenta los diversos haplotipos murinos y los linajes de parásitos (DTUs) que se han evaluado a nivel preclínico. En este trabajo, hemos realizado un relevamiento de las publicaciones que utilizan proteínas de la Sf-TS en vacunas a fin de clarificar diferencias y similitudes entre las secuencias estudiadas y estimar cuál sería su potencial utilidad en vacunas humanas.

Comprobamos que las secuencias del Grupo I (TS-GI) y las del Grupo II (particularmente ASP-2 y TSA-1) son las más utilizadas en vacunas experimentales. Luego determinamos la cobertura e identidad entre todas las secuencias reportadas. En las mismas secuencias, realizamos una predicción de epitopes-T de alto potencial inmunogénico en los haplotipos H-2Kb

y H-2Kd de ratón, así como también epitopes-B lineales. La identidad global de aminoácidos de los inmunógenos es alta cuando se los compara contra una secuencia de referencia (>80%), pero la cobertura de los fragmentos varía significativamente de un estudio a otro. Estudios comparativos entre secuencias procedentes de DTUs representativos, revelaron que TS-GI y TSA-1, pero no ASP-2, comparten una identidad significativa (>90%) y una fuerte conservación de epitopes dentro de la especie. Por último, las predicciones bioinformáticas mostraron que algunos epitopes-T fuertes probados a nivel pre-clínico, podrían ser reconocidos de forma cruzada por HLA humanos. Teniendo en cuenta que tanto TS-GI como TSA-1 tienen epitopes-T y B conservados dentro de la especie *T. cruzi* y que algunos de los epitopes-T se comparten entre humanos y ratones, se concluye que estos antígenos tienen una alta potencialidad para ser usados en vacunas humanas.

### I-003

#### **La infección con *Trypanosoma cruzi* y la respuesta inmunitaria de memoria generada tras la infección inhiben el crecimiento tumoral en ratones C57BL/6 desafiados con la línea celular B16-F10.**

Cintia Daniela Kaufman<sup>1</sup>, Lucía Biscari<sup>1</sup>, Cecilia Farré<sup>1,2</sup>, Victoria Huhn<sup>3</sup>, Ana Rosa Perez<sup>1</sup>, Andrés Alloatti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER - CONICET/UNR), Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB), Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FCBioyF - UNR), Rosario, Argentina

La regresión espontánea de tumores a menudo se asocia con infecciones. Para evaluar el efecto antitumoral de la infección con *Trypanosoma cruzi* y la respuesta inmunitaria de memoria generada, ratones hembra C57BL/6 se dividieron al azar en cuatro grupos: G1 recibió una dosis



intraperitoneal (IP) de 10000 tripomastigotes cepa Tulahuén (trijos) (día 0), y fue tratado con Benznidazol (BZ). Para estimular la respuesta, este esquema se repitió dos meses después; G2 recibió una inyección IP de 500 trijos (día 110); G3 se trató con BZ como G1; G4 no fue infectado ni recibió BZ. Todos los grupos fueron desafiados por vía subcutánea con células tumorales B16-F10 (día 125). Se controló la parasitemia y la evolución tumoral. No se observaron diferencias ni en el crecimiento tumoral ni en la supervivencia entre G3 y G4, y por ello G3 se excluyó del resto de los análisis. A partir del día 7 post-inoculación (PI), se encontraron diferencias en el volumen tumoral entre grupos (G2 vs G4 - días 7 y 11-18 PI –  $p<0.01$  y  $p<0.001$ , respectivamente; G1 vs G4 - días 7, 11 y 18 PI –  $p<0.01$  y  $p<0.05$ , respectivamente; G2 vs G1 – día 14 y 16-18 PI  $p<0.01$  y  $p<0.05$ , respectivamente - *Test de Kruskal-Wallis*). Esto se tradujo en una diferencia significativa en la supervivencia entre G2 y G4 ( $p<0.01$  – *Test Log-rank*). Los animales se sacrificaron cuando los tumores alcanzaron 1500 mm<sup>3</sup> y se analizaron distintas poblaciones linfocitarias por citometría de flujo. Se encontraron diferencias significativas entre G2 y G4 en % de linfocitos T CD8<sup>+</sup> totales, de memoria efectora y de memoria central específicos contra *T. cruzi*, en bazo y ganglios linfáticos. Además, células T específicas infiltraron el tumor en G1 y G2. Concluimos que tanto la infección con *T. cruzi* como la memoria inmunológica generada inhiben el crecimiento del tumor B16-F10, aunque en diferentes magnitudes. La infección probablemente induce una respuesta antitumoral a través de varios mecanismos, siendo la reactividad cruzada uno de ellos.

#### I-004

### ESTRATEGIA DE VACUNACIÓN BASADA EN CÉLULAS DENDRÍTICAS ACTIVADAS CON LPS INDUCE UNA RESPUESTA DE CÉLULAS T CD8<sup>+</sup> CAPAZ DE OTORGAR PROTECCIÓN

### PARCIAL FRENTE A LA INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi*.

Lucía Biscari<sup>1</sup>, Cintia Kaufman<sup>1</sup>, Cecilia Farré<sup>1,2</sup>, Victoria Huhn<sup>3</sup>, María Florencia Pacini<sup>1</sup>, Camila Bulfino Balbi<sup>1</sup>, Karina Gómez<sup>4</sup>, Ana Rosa Pérez<sup>1</sup>, Andrés Alloatti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, Argentina. <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular Dr. Héctor N. Torres, Buenos Aires, Argentina

Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> son componentes clave de la respuesta inmunitaria frente al parásito *Trypanosoma cruzi* y, en este sentido, el diseño de vacunas que induzcan tales respuestas es prometedor. En este trabajo se diseñó una estrategia de vacunación basada en células dendríticas derivadas de médula ósea de ratón “BMDCs”, incubadas con un epítipo parasitario TsKb20 -derivado de la proteína transialidasa de *T. cruzi*- y activadas con LPS, para inducir una respuesta de células T CD8<sup>+</sup> específica para TsKb20. El esquema experimental fue el siguiente: ratones C57BL/6 fueron inmunizados por vía intravenosa con 50.000 BMDCs cargadas con TsKb20 y activadas, seguido de un refuerzo dos semanas después. Un grupo de animales fue inmunizado con BMDCs activadas, pero no cargadas con péptido (control negativo). Quince días después del refuerzo, las suspensiones de células derivadas de los ganglios linfáticos se cultivaron durante 15 h con TsKb20 50 µM. La respuesta específica de las células T CD8<sup>+</sup> se midió mediante citometría de flujo evaluando los marcadores de activación CD25<sup>+</sup> y CD69<sup>+</sup> en la población de células T CD8<sup>+</sup>. A través de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, se encontró que la respuesta de las células T CD8<sup>+</sup> específicas de TsKb20 en animales inmunizados con BMDCs cargadas con péptido fue significativamente mayor que en los animales control negativo. Se obtuvieron los mismos resultados al medir la producción de IFN-γ mediante ELISPOT después de la reestimulación con el péptido, o mediante tinción con

tetrámeros específicos. Otro grupo de animales fue inmunizado y luego desafiado con 2000 tripomastigotes de *T. cruzi*. Los ratones hembra, pero no los machos, mostraron una menor parasitemia y una mayor supervivencia en comparación con los animales control negativo. Estos resultados sugieren que la transferencia adoptiva de BMDCs podría usarse como estrategia para inducir respuestas anti-*T. cruzi* de células T CD8<sup>+</sup>, aunque estas parecen ser protectoras solo en ratones hembra.

### I-030

#### Estudio de la participación de la Galectina-8 en el desarrollo de esplenomegalia en diferentes escenarios infecciosos.

Juan Ignacio Saborit, Adriano Bertelli, Sofia Drago, Cecilia Czibener, María Susana Leguizamón

IIBio - UNSAM - CONICET, General San Martín, Buenos Aires, Argentina

Las galectinas son lectinas con afinidad por  $\beta$ -galactósidos, que participan tanto en eventos patológicos como homeostáticos. Previamente hemos comunicado que la Galectina-8 (Gal-8) participa como molécula anti-inflamatoria durante la infección crónica por *T. cruzi*, usando ratones C57BL/6J (WT) y Gal-8 knockout (Gal-8KO) machos. En este modelo, en el que no hay diferencias de parasitemia ni mortalidad entre los grupos, observamos el desarrollo de una esplenomegalia persistente en ratones Gal-8KO infectados (Gal-8KOi) a 4-5 meses post-infección (mpi). Con el fin de comprender este fenómeno, nos propusimos analizarlo en diferentes escenarios: i) Dado que los machos presentan mayor susceptibilidad a la infección por *T. cruzi*, infectamos hembras WT y Gal-8KO para estudiar el desarrollo de esplenomegalia y las poblaciones celulares involucradas a los 4 mpi. ii) Para analizar si este fenómeno es extrapolable a otros patógenos intracelulares, realizamos el seguimiento de la infección por *Brucella abortus*

(cepa vacunal S19) hasta los 31 dpi, empleando dosis del orden de  $10^5$  UFC/ratón vía ip. Resultados: i) El peso ( $p=0,0007$ ) y recuento de esplenocitos ( $p=0,0087$ ) de los bazo de hembras Gal-8KOi, reveló diferencias significativas respecto de los WTi. El estudio por citometría de flujo de las poblaciones linfoides (LT CD4<sup>+</sup>), mieloides (CD11b<sup>+</sup> F4/80<sup>+</sup>; CD11b<sup>+</sup> Ly6C<sup>+</sup>; y CD11b<sup>+</sup> Ly6G<sup>+</sup>) y células dendríticas (CD11c<sup>+</sup> F4/80<sup>-</sup>) mostró un aumento significativo de los valores absolutos en las hembras Gal-8KOi, similar a lo observado en machos Gal-8KOi. En este modelo, la esplenomegalia crónica en ausencia de Gal-8 es independiente del sexo. ii) Los valores del peso, la celularidad y el recuento de colonias en los bazo fueron semejantes entre los grupos infectados a 14, 25 y 31 dpi; y los mismos disminuyeron hacia los 31 dpi. Los resultados indican que la ausencia de Gal-8 no modifica la esplenomegalia inducida por *B. Abortus*, y que la evolución de la infección no se ve alterada.

### I-031

#### Prevalencia de la Enfermedad de Chagas durante la pandemia COVID-19 en la Provincia Mizque del Depto. de Cochabamba-Bolivia.

Claudia Terrazas Maldonado, Bronsson George Hinojosa García, Nora Medrano Mercado

Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia, Plurinational State of

Antes de la pandemia varias zonas endémicas fueron controladas a través de la fumigación y el mejoramiento de las viviendas. Sin embargo, la llegada de la pandemia y la cuarentena hizo que las enfermedades prevalentes como la enfermedad de Chagas hayan sido descuidadas y esto obliga a los investigadores a conocer la situación actual de la Enfermedad en nuestras comunidades.

Objetivo General: Evaluar la seroprevalencia de la Enfermedad de Chagas en la Prov. Mizque del

Depto. de Cochabamba (Bolivia), durante la pandemia del COVID-19.

Metodología: La población de estudio fue la comunidad de Tin Tin de la provincia Mizque en Cochabamba, Bolivia, nuestro equipo de trabajo buscó datos anteriores a la pandemia de casos positivos de Chagas en esa comunidad para poder comparar con los datos actuales.

Los análisis inmunoserológicos han sido realizados utilizando métodos de alta sensibilidad y especificidad como Hemaglutinación indirecta (HAI) y el método de ELISA recombinante Wiener.

Resultados: La prevalencia de la enfermedad de Chagas en la comunidad de Tin Tin, es de 77%, donde 58% de mujeres y 42% de hombres son seropositivos.

Brenière et al., 2002 afirma que 44% de la población de mizque eran seropositivos. Esto es una alerta para las autoridades de salud, ya que la prevalencia de la enfermedad de Chagas actual es mayor a antes de la pandemia, además que el porcentaje mayor de seropositivos es en mujeres, dato muy importante por el peligro de la transmisión transplacentaria en áreas endémicas.

### I-032

## **TRANSMISION ORAL DE LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA A TRAVES DE LA LECHE MATERNA EN LA PROVINCIA CAPINOTA DEL DEPARTAMENTO DE COCHABAMBA-BOLIVIA.**

Nora Medrano Mercado, Edgar Franz Vallejos Salinas, Claudia Terrazas Maldonado, Bronsson George Hinojosa Garcia

Univ. Mayor de San Simon, Cochabamba, Bolivia, Plurinational State of

El proyecto ha sido desarrollado el año 2018. Se evaluó la transmisión oral de la Tripanosomiasis americana a través de la leche materna en 25 madres seropositivas para la Enfermedad de

Chagas sus 25 respectivos bebes y las 25 leches que las madres daban de lactar a sus bebes. Las madres han firmado el termino de consentimiento informado, aceptando participar de manera voluntaria en el presente proyecto. Las muestras fueron recolectadas en el Hospital de Capinota-Cochabamba. El análisis inmunoserológico ha sido realizado por los métodos Hemaglutinación indirecta (HAI), polychaco y ELISA recombinante Wiener. De las 25 muestras de sueros de madres analizadas, 25 (100%) son seropositivas al HAI, 24 (96 %) son seropositivas al ELISA. De los 25 bebes analizados 22 (88%) son seropositivos al HAI, 24 (96 %) son seropositivos al ELISA. De las 25 muestras de leche analizadas 4 (16 %) son seropositivas al HAI. Las 25 muestras de leche analizadas por el método parasitológico directo, no se observó la presencia de Trypanosoma cruzi. En 100% de las muestras de leche materna se ha identificado, glóbulos rojos, confirmando la contaminación de la leche con sangre posiblemente de las fisuras en los pezones de madres en periodo de lactancia. Conclusión: El presente estudio nos muestra que existe un alto porcentaje de mujeres y bebes seropositivos a la Enfermedad de Chagas. El análisis inmunoserológico de la leche indica que 16% presenta anticuerpos anti- Trypanosoma cruzi. No se ha observado la presencia de Trypanosoma cruzi, en la leche al examen directo, indicándonos que posiblemente ha existido una baja parasitemia en las leches contaminadas con sangre y que la infección de los bebes ha sido probablemente por transmisión, vectorial o transmisión transplacentaria.

### I-041

## **Caracterización de factores del sistema de complemento en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.**

María Belén Caputo<sup>1</sup>, Guido Infante Ferrari<sup>1</sup>, Josefina Elias<sup>1</sup>, Gonzalo Cesar<sup>1</sup>, Florencia Zabaleta<sup>1</sup>, María Gabriela

Alvarez<sup>2</sup>, Bruno Lococo<sup>2</sup>, Susana Laucella<sup>1,2</sup>, Maria Cecilia Albareda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatale Chaben”, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón, Provincia de Buenos Aires, Argentina

El sistema inmunológico tiene un rol central en el control de la infección por *T. cruzi* pero al mismo tiempo necesita ser controlado para prevenir el desarrollo de la patología en el huésped. El sistema de complemento es un elemento clave del sistema inmune innato, pero también se ha demostrado que la interacción entre sus componentes y los receptores de las células inmunitarias puede modular la respuesta inmune adaptativa. Independientemente de la vía de activación del complemento se produce la formación de las principales moléculas efectoras, las anafilotoxinas C3a y C5a. Se ha demostrado que la interacción entre C3a y C5a y sus receptores C3aR y C5aR1/2 respectivamente, en las células T es fundamental para lograr una correcta activación, diferenciación y supervivencia de las células T. En este trabajo analizamos la expresión de C3aR y C5aR y de la molécula reguladora CD55 en la población total de linfocitos T CD4+ y CD8+ en pacientes crónicamente infectados con el parásito (n=30) y controles no infectados (n=14). Los datos evaluados hasta el momento muestran una disminución significativa en el porcentaje de expresión, así como también, en la intensidad media de fluorescencia del receptor C3aR y de CD55 en la población total de linfocitos T CD8+ en los pacientes crónicamente infectados. Por el contrario, no encontramos diferencias significativas en la expresión del receptor C5aR en los linfocitos T CD8+ y de ninguno de los marcadores analizados en la población total de linfocitos T CD4+. Teniendo en cuenta el rol de las moléculas analizadas sobre la modulación de la respuesta adaptativa, estos resultados podrían sugerir su participación en el proceso de agotamiento que ocurre en la población de linfocitos T CD8+ en los pacientes con enfermedad de Chagas crónico.

## I-056

### **Anticuerpos específicos para Sulfotopes de la Cruzipaína. Huellas de la acción indirecta de los epitopes sulfatados durante el curso de la infección experimental y/o natural por *Trypanosoma cruzi*.**

Luciana L. Soprano<sup>1</sup>, Maximiliano R. Ferrero<sup>1</sup>, Malena Landoni<sup>2,3</sup>, Gabriela A. García<sup>1,3</sup>, Mónica I Esteva<sup>1</sup>, Alicia S. Couto<sup>2,3</sup>, Vilma G. Duschak<sup>3,1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatale Chaben”, Departamento de Investigación, ANLIS-Malbrán, Ministerio de salud de la Nación, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>CIHIDECAR (CONICET), Departamento de química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina

La glicoproteína de *Trypanosoma cruzi*, Cruzipaína (Cz) constituye un antígeno mayoritario del parásito. La forma madura de la Cz presenta un dominio carboxilo terminal (C-T) inusual, que contiene oligosacáridos sulfatados ricos en residuos de manosa formando parte de las modificaciones post-traduccionales presentes en su único sitio de N-glicosilación. A través de la exposición experimental de ratones BALB/c a C-T, en ausencia de infección, se demostró que las glicoproteínas sulfatadas en tripanosomátidos son blanco de respuestas inmunes específicas y que se encuentran involucradas en alteraciones ultraestructurales cardíacas, que no se observaron en ratones expuestos al dominio C-T desulfatado químicamente (C-Td). Recientemente, nuestras evidencias permitieron demostrar, en el modelo murino, que los anticuerpos específicos para los sulfotopes de Cz participan en la inmunopatogenia tisular cardíaca y durante la infección experimental con *T. cruzi*. Así mismo, las personas naturalmente infectadas y que cursan la fase crónica de la enfermedad de Chagas presentan una respuesta humoral específica para sulfotopes de Cz, caracterizada

por el isotipo IgG2, (IgG2SO3). Sorprendentemente, se observó que las personas crónicamente infectadas, durante los estadios clínicos leves de la enfermedad, 0 y 1, presentaron mayores niveles de IgG2SO3 para glicoproteínas sulfatadas y sulfátidos de *T. cruzi* en comparación con aquellas personas crónicamente infectadas que se encuentran cursando cuadros clínicos más severos, en los estadios 2 y 3. A través de la serología de los pacientes crónicamente infectados se evidenció que la antigenicidad de los sulfotopes presentes en *T. cruzi* es independiente del tipo de glicoconjugado sulfatado. Los estudios en curso pretenden dilucidar el rol de los IgG2SO3 como predictor de estabilidad en estadios tempranos de la enfermedad o si pueden ser considerados como un biomarcador de progresión de patología cardíaca en la Enfermedad de Chagas.

## I-059

### Estudio de marcadores inflamatorios y oxidativos en pacientes con enfermedad de Chagas. Búsqueda de biomarcadores de progresión.

Azul V. Pieralisi<sup>1</sup>, Cecilia Molina<sup>2</sup>, Nilda Prado<sup>2</sup>, Juan A. Gagliardi<sup>2</sup>, Gerardo A. Mirkin<sup>3</sup>, Federico N. Penas<sup>1</sup>, Ágata C. Cevey<sup>1</sup>, Nora B. Goren<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS, UBA-CONICET), C.A.B.A., Argentina. <sup>2</sup>Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich, C.A.B.A., Argentina.

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), C.A.B.A., Argentina

La cardiopatía chagásica crónica (CCC) es la manifestación clínica más importante de la infección con *Trypanosoma cruzi* (*Tc*) debido a su frecuencia, gravedad y efectos sobre la morbimortalidad. Se ha propuesto que la respuesta inflamatoria exacerbada se relaciona con mayor producción de citoquinas que inducirían una mayor generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en pacientes con CCC. Con el fin de caracterizar el estado inflamatorio y oxidativo de individuos seropositivos con

diferentes formas clínicas para la enfermedad de Chagas, se reclutaron pacientes cursando el estadio 0 (E0; sin evidencia de daño cardíaco), I (E1; ECG anormal), II (E2; ECG y Rx-tórax anormal) y III (E3; ECG y Rx-tórax anormal y falla cardíaca), según la estadificación de Kuschnir. Se obtuvo sangre entera, se aisló suero y plasma y se purificaron las células mononucleares de sangre periférica (CMSP). En primer lugar, analizamos mediante citometría de flujo (FACS) la expresión de mediadores inflamatorios en monocitos caracterizados por la expresión de CD14 y CD16. Observamos en monocitos clásicos (CD14+/CD16-), una tendencia al aumento de TNF $\alpha$  en pacientes E0, que se vuelve significativo en pacientes E3. Por otro lado, evaluamos las especies reactivas del oxígeno en las CMSP mediante sondas fluorescentes (FACS). Usando la sonda DCFDA, observamos un aumento significativo de ROS en pacientes E0. Luego, estudiamos por ELISA la expresión de las citoquinas en plasma. Encontramos un aumento de IL-10 en los pacientes del E3, comparados con los individuos sanos. Por último, como indicadores de injuria tisular, se midió la actividad de CK-MB, GOT, LDH-P y proteína C reactiva en el plasma o suero y observamos un aumento de la actividad en pacientes E3. Consideramos que el estudio de marcadores inflamatorios y oxidativos en pacientes con enfermedad de Chagas es el punto de partida para la búsqueda de nuevos biomarcadores que colaboren con prevenir o evitar la progresión de la CCC.

## I-088

### Análisis comparativo de combinaciones duales de marcadores inducidos por activación (Activation induced markers) para identificar células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> específicas para *T. cruzi* en pacientes con Enfermedad de Chagas crónico.

Fátima Ferragut<sup>1</sup>, Karen Magalí Cruz<sup>1</sup>, Juan Pablo Gallardo<sup>1</sup>, Marisa Fernández<sup>2</sup>, Yolanda Hernández<sup>2</sup>, Karina Andrea Gómez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Héctor N. Torres” (INGEBI-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatała Chabén” (INP-ANLIS), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Las células T antígeno-específicas cumplen un rol central en la respuesta inmune adaptativa frente a la infección con el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). En este contexto, el presente estudio se focaliza en analizar el uso de ensayos que permiten detectar dichas células *target* basados en la sobre-expresión de marcadores inducidos de activación a partir del reconocimiento por el receptor de células T de los complejos péptido-CMH (denominados ensayos de AIM, del inglés “*activated induced markers*”). Se testearon diferentes combinaciones duales de marcadores de activación para identificar linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> activados específicamente en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con Enfermedad de Chagas crónico (ECC) e individuos no-infectados luego de la estimulación con lisado de *T. cruzi* durante 12 o 24 hs. Los resultados mostraron que los ensayos de AIM combinando la expresión de OX40, CD25, CD40L, CD137, CD69 y/o PD-L1 permiten detectar células T CD4<sup>+</sup> *T. cruzi*-específicas en los pacientes con ECC, a ambos tiempos de estimulación. Para las células T CD8<sup>+</sup>, la co-expresión de PD-L1/OX40 luego de 24 hs de incubación con el antígeno resultó ser la más adecuada para identificar la respuesta antígeno-específica, aunque la magnitud de activación fue menor que para las células T CD4<sup>+</sup>. Utilizando las combinaciones duales previamente descritas, se demostró que la activación celular T específica (tanto de células CD4<sup>+</sup> como CD8<sup>+</sup>) es mediada por diferentes cepas de *T. cruzi*. A la vez que, la caracterización en base a la expresión de CD45RA y CCR7 evidenció linfocitos T activados con fenotipo naïve y/o de memoria dependiendo de la cepa de parásito utilizada. En conclusión, este trabajo expone que las distintas

combinaciones de marcadores de activación representan una técnica simple y efectiva para la detección de células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> *T. cruzi*-específicas.

## I-093

### **Determinación de la activación de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> *T. cruzi*-específicos en pacientes con diferentes estados clínicos de la enfermedad de Chagas crónica.**

Karen Magalí Cruz<sup>1</sup>, Fátima Ferragut<sup>1</sup>, Yolanda Hernández<sup>2</sup>, Marisa Fernández<sup>2</sup>, Karina Andrea Gómez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Héctor N. Torres” (INGEBI - CONICET), Ciudad de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatała Chabén”, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

El estudio de las células T CD4<sup>+</sup> antígeno-específicas es fundamental para comprender los mecanismos que llevan a un paciente con la Enfermedad de Chagas crónica (ECC) a desarrollar cardiomiopatía. Así, en paralelo al estudio del uso de la metodología de expresión de marcadores de activación (AIM) para detectar células parásito-específicas en estos pacientes, decidimos evaluar la eficacia de este ensayo en los diferentes cuadros clínicos. Para ello, se aislaron células mononucleares de sangre periférica de pacientes con ECC sin sintomatología clínica, con cardiomiopatía y donantes no infectados. Las células se incubaron durante 24 horas sin estímulo antigénico, con lisado de *T. cruzi* provenientes de diferentes cepas (Dm28c, Sylvio, CL Brener) y PHA (control positivo). Se utilizó la combinación dual OX40/CD25 y OX40/CD137 para el ensayo AIM, y CD45RA y CCR7 para analizar la distribución fenotípica en las subpoblaciones naïve, de memoria central, de memoria efectora y de memoria efectora terminal. Nuestros resultados muestran que la co-expresión de OX40/CD25 y OX40/CD137 permite determinar la presencia de

células T CD4<sup>+</sup> parásito-específicas en ambos grupos de pacientes y con todas las cepas de *T. cruzi*; CL-Brener fue la menos reactiva. Un hallazgo interesante fue el hecho que los pacientes sin sintomatología clínica tienen una tendencia a mostrar un perfil de activación mayor que los individuos con cardiomiopatía. Aunque las células activadas fueron en su mayoría células de memoria efectora, el fenotipo fue variable en función de la cepa utilizada para la estimulación, así como también si las mismas procedían de pacientes sin o con sintomatología.

Nuestros resultados muestran que estas combinaciones duales de AIM permiten determinar la activación de las células T CD4<sup>+</sup> de pacientes en cualquiera de las formas clínicas, siendo en su mayoría células que ya han “visto” al antígeno.

## Epidemiología y Vectores

### EV-006

#### **Contaminación de suelos con huevos de *Toxocara* spp. en espacios peridomiciliarios y de recreación de la ciudad de Corrientes, Argentina.**

Marcelo Rossi<sup>1</sup>, María de los Angeles López<sup>1,2</sup>, Pilar Medrano<sup>2</sup>, Marcelo Medina<sup>2</sup>, María Viviana Bojanich<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Medicina Regional. UNNE, Resistencia, Chaco, Argentina

La infección humana por *Toxocara* spp. es una de las helmintiasis más comúnmente informada en todo el mundo y detectada con mayor frecuencia en niños, ya que por sus hábitos higiénicos constituye el grupo más expuesto. En el suelo se realiza la maduración de los huevos hasta el desarrollo de la larva infectante, por lo tanto, la

contaminación del suelo es indicador de riesgo de infección humana.

**Objetivo.** Determinar la prevalencia de huevos de *Toxocara canis* en suelos de plazas y parques públicos, y espacios peridomiciliarios de la ciudad de Corrientes, Argentina.

**Materiales y métodos.** Las muestras de suelo de plazas, parques y espacios peri domiciliarios fueron recolectadas de la capa superficial y se tomaron pequeñas alícuotas formando un pool. Para la recuperación de huevos de *Toxocara* spp., cada pool de muestra de suelo fue procesado por triplicado, utilizando solución saturada de ZnSO<sub>4</sub> como solución de flotación y se capta al óptico.

**Resultados.** De un total de 105 muestras de suelo, 15 (14,3 %) fueron positivas para huevos de *Toxocara* spp. Del total, 67 muestras correspondieron a plazas y parques, donde 9 (13,4 %) fueron positivas, y 38 correspondieron a los espacios peri domiciliarios de barrios de la ciudad, donde 6 (15,8 %) resultaron positivas. En las muestras positivas del peri domiciliario, los huevos observados estaban embrionados o en proceso de división.

**Conclusión.** Los valores de prevalencia hallados confirman la presencia de huevos de *T. canis*, tanto en parques y plazas como en el peridomicilio, donde, además, la presencia de huevos embrionados constituye un riesgo mayor de infección. El nivel de contaminación encontrado en este trabajo sería una consecuencia de la numerosa población canina de la ciudad, de las malas conductas de los vecinos que sacan a pasear a sus mascotas, y la falta de medidas oficiales higiénicas-sanitarias que evitan o disminuyen la presencia de heces caninas en los espacios públicos.

### EV-022

#### **Riesgo de transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi* a lo largo de un gradiente urbano-rural luego de 4 años de vigilancia entomológica.**

Alejandra Alvedro<sup>1,2</sup>, Maria Sol Gaspe<sup>1,2</sup>, Natalia Paula Macchiaverna<sup>1,2</sup>, Gustavo Fabian Enriquez<sup>1,2</sup>, Ricardo Esteban Gürtler<sup>1,2</sup>, Marta Victoria Cardinal<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>FCEN UBA, Capital federal, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Capital federal, Argentina

La interrupción de la transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi* sigue siendo uno de los principales objetivos de los Programas de control de Chagas en muchos países. Durante el 2015-2019 implementamos un programa de intervención longitudinal, denominado “Avia Terai sin Chagas” en la provincia de Chaco, con el fin de suprimir la infestación por *Triatoma infestans* de las viviendas y disminuir la carga de enfermedad en los habitantes. Registramos una disminución significativa en la infestación de las viviendas a lo largo del gradiente urbano rural entre el estudio de base (EDB) y los primeros 2 años de monitoreo post-rociado (APR), sin embargo, a 4 APR no hubo diferencias significativas para las viviendas rurales respecto al monitoreo previo<sup>1,2</sup>. En el presente trabajo con el objetivo de determinar el riesgo de transmisión vectorial, determinamos la prevalencia de infección por *T. cruzi*, el índice de ingesta sobre humanos en los *T. infestans* colectados a lo largo de los monitoreos y el porcentaje de viviendas con insectos alimentados sobre humanos. Analizamos todos los *T. infestans* colectados en los domicilios y realizamos un muestreo al azar de acuerdo al ecotopo peridoméstico de captura<sup>3</sup>. Examinamos 917 insectos de 200 viviendas (109 del EDB y 91 del post-rociado) (46,5% de las infestadas). Hallamos 13 viviendas con triatominos infectados en el EDB pertenecientes al ambiente rural y periurbano, 2 en el 1er APR en el periurbano, ninguna en el 2 APR y 3 rurales en el 4to APR. No se hallaron triatominos infectados en el urbano en ningún monitoreo. Las tres métricas empleadas mostraron un patrón temporal similar registrando una disminución en los 2 primeros monitoreos, y un aumento en el último monitoreo. Nuestros resultados indicarían un riesgo de transmisión vectorial marginal luego de las primeras intervenciones.

## Biología Parasitaria

### BP-001

#### Estudios funcionales de los dominios GAF y TIP41 de la enzima free metionina sulfóxido reductasa de *Trypanosoma cruzi*.

Lihue Nadia Gonzalez, Sergio Guerrero, Alberto Iglesias, Diego G Arias

Laboratorio de enzimología molecular, IAL (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina

La metionina es un aminoácido susceptible a oxidarse a metionina sulfóxido (MetSO). La reducción de MetSO a metionina está catalizada por la enzima metionina sulfóxido reductasa. *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, es auxótrofo en metionina. A través de un análisis de su genoma, identificamos una secuencia codificante para la metionina sulfóxido reductasa libre (fMSR). En *T. cruzi*, esta proteína está constituida por un dominio de tipo GAF fusionado al dominio TIP41. Se obtuvieron células de epimastigotes de *T. cruzi* sobreexpresantes de estos dominios y se caracterizaron fenotípicamente. Los resultados obtenidos mostraron que la línea celular sobreexpresante del dominio GAF presenta mayor tolerancia al benznidazol, nifurtimox, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y MetSO que la línea control (no sobreexpresante). La línea de parásitos recombinantes sobreexpresantes del dominio TIP41 mostro mayor tolerancia a benznidazol y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y una menor tolerancia a nifurtimox que la línea control. Además, esta línea sobreexpresante no exhibió cambios significativos en la sensibilidad a MetSO con respecto a la línea control. Ambas líneas celulares mostraron ser más sensibles a GSNO que la línea control. También, los resultados obtenidos de ensayos de *western blot* contra muestras de estos parásitos recombinantes indicaron que la línea sobreexpresante del dominio GAF posee un mayor nivel de la proteína



cP<sub>x</sub> con respecto al control. En la línea de TIP41 se observó una disminución del nivel de mP<sub>x</sub>, AP<sub>x</sub> y SODB. En adición, observamos que la sobreexpresión del dominio GAF induce una mayor tasa de diferenciación de epimastigote a trypomastigote metacíclico. Por el contrario, la sobreexpresión del dominio TIP41 reprime el proceso de diferenciación del parásito. Los resultados aquí presentados indican que los dominios de la fMSR poseen capacidad de modular de los niveles de otras proteínas antioxidantes, como así también procesos celulares del parásito. Financiado por ANPCyT (PICT2017-2268).

## BP-010

### **Caracterización genética de distintos aislamientos de *Trypanosoma cruzi* y su correlación con el origen geográfico de los pacientes y la variabilidad clínica de la enfermedad de Chagas. Resultados preliminares.**

Daniela Alejandra Velázquez López<sup>1</sup>, Romina Blasco<sup>1</sup>, Mariana M. Montamat<sup>2</sup>, Javier Buteler<sup>3</sup>, Carolina Bazan<sup>1</sup>, Alejandra Baéz<sup>1</sup>, Walter Rivarola<sup>1</sup>, Silvina Lo Presti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudio e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis. INICSA/CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Hospital Misericordia, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Hospital San Roque, Córdoba, Argentina

La variabilidad genética de *Trypanosoma cruzi*, el cual ha sido clasificado en 6 unidades discretas de tipificación (UDT - TcI a TcVI), podría influir en las características de la Enfermedad de Chagas, pudiendo estas UDTs estar involucradas en la evolución de la miocardiopatía chagásica crónica, que es la manifestación clínica más severa de la enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar genéticamente distintos aislamientos de *T. cruzi* y su relación con la variabilidad clínica presentada por pacientes con Chagas de diferente origen geográfico de la Provincia de Córdoba.

Para ello, se trabajó con 53 muestras de sangre de pacientes con presencia de *T. cruzi* en circulación (determinada por PCR) provenientes del Consultorio de Chagas del Hospital San Roque y de la ex Clínica Sucre de la ciudad de Córdoba. Se extrajo el ADN del parásito por técnicas convencionales y se determinó la UDT presente en cada caso por PCR.

De acuerdo con sus características clínicas, los pacientes se clasificaron en los siguientes grupos: G1(n=31): sin cardiopatía, G2(n=18): con cardiopatía leve (con alteraciones electrocardiográficas) y G3(n=4): con cardiopatía severa (con alteraciones electro y ecocardiográficas). El 30% eran de Córdoba capital. Se determinó la presencia de TcII en 25 pacientes (47%), de TcV en 27 (51%) y de TcVI en sólo 1 (2%), distribuyéndose, de acuerdo con su lugar de nacimiento, en el noroeste y centro de la Provincia. No se encontró asociación entre la UDT presente y el grupo clínico o el origen geográfico de los pacientes (P>0,05 en ambos casos).

Estos resultados preliminares indicarían que la UDT presente no se relaciona con el cuadro clínico presentado por el paciente; la inclusión de una mayor cantidad de casos (que se encuentra en proceso) es necesaria para arribar a resultados más concluyentes y efectivamente poder determinar si existe asociación entre la variabilidad genética de *T. cruzi* y las manifestaciones clínicas de los pacientes.

## BP-011

### **Diversidad de dominios con homología a chaperonas de secreción de bacterias enteropatógenas en tripanosomátidos.**

Lucía Celay, Camila Centeno Cameán, Ignacio Durante, Carlos Gabriel Briones, Carlos Andrés Buscaglia

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, San Martín, Argentina

TCLP1 es una proteína de *T. cruzi*, involucrada en captación de nutrientes, que presenta estructura

quimérica formada por un dominio *ubiquitin-like* (UBL), uno de interacción proteína-proteína (PDZ) y uno homólogo a chaperonas CesT que asisten en la secreción de efectores en bacterias enteropatógenas.

El rastreo en genomas de tripanosomátidos con el dominio *CesT-like* reveló una gran cantidad de secuencias que se agrupan en 5 grupos de homología (CEST1-5). En línea general, los tripanosomátidos muestran un mínimo de 2 proteínas con dominios *CesT-like*, una conteniendo dominios UBL y PDZ (tipo TCLP1, grupos CEST4-5) y otra solo UBL (grupos CEST2-3). Los tripanosomas del grupo *Salivaria* han perdido la proteína UBL-CesT-PDZ mientras que las *Leishmanias* y ciertos tripanosomas (incluyendo *T. cruzi*) presentan una proteína adicional UBL-CesT (grupo CEST1). Modelados proteicos de miembros representativos de cada grupo en AlphaFold2 revelan alta superposición estructural con chaperonas CesT, particularmente para los de los grupos CEST1-3. La funcionalidad de estos dominios se evaluó primeramente en ensayos de interacción con efectores de secreción de *Salmonella* Typhimurium: SptP y SopE. Como controles se usaron chaperonas CesT específicas para los efectores (SicP e InvB, respectivamente). En línea con evidencias estructurales, la co-expresión en *E. coli* de los dominios de CEST1,2 o 3, pero no de los de CEST4 o 5, estabilizó a los efectores en el citoplasma de la bacteria, evitando su degradación. A diferencia de las CesT bacterianas, que solo se unieron a su efector específico, los dominios de proteínas CEST1,2 o 3 estabilizaron ambos efectores, indicando distinto modo de interacción.

Ensayos adicionales refuerzan la especificidad de estos hallazgos e incitan a estudios de complementación funcional en bacterias mutantes. Nuestros resultados echan luz sobre la evolución de los dominios *CesT-like* en tripanosomátidos y sugieren que, al menos algunos, conservan la actividad chaperona.

## BP-012

### Estudio de la diversidad de GP63 en tripanosomátidos.

Aldana Alexandra Cepeda Dean, Carlos Andrés Buscaglia, Virginia Balouz

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de San Martín y CONICET, San Martín, Argentina

Las metaloproteasas GP63 de tripanosomátidos son factores de virulencia involucrados en múltiples aspectos de su interacción con el hospedador mamífero y/o insecto. En un proyecto enfocado en mejorar las bases de datos de las familias génicas en *T. cruzi*, realizamos una búsqueda de secuencias proteicas de GP63 en el genoma de la cepa TCC, las cuales fueron luego curadas con las herramientas bioinformáticas BLAST, CLUSTALW e iTOL. Haciendo alineamientos múltiples de estas secuencias, identificamos un total de cinco grupos robustos de homología, compuestos por al menos 17 secuencias cada uno, de los cuales tres no habían sido descritos previamente. Uno de ellos muestra huellas de recombinación con transsialidasas, tal como ha sido descrito para otras familias multigénicas. Más importante, cada uno de los grupos de GP63 identificados presenta características particulares a nivel de secuencia (repeticiones, firmas moleculares), organización estructural y posicionamiento en compartimentos conservados/disruptivos del genoma, asociación con diferentes familias de genes (RNAsaH o MASPs) o estructuras transcripcionales (regiones de *strand-switching*), etc. En ese sentido, cabe mencionar que los diferentes grupos de secuencias GP63 delineados en *Leishmania* y *T. brucei*, con distinto perfil de expresión y posiblemente asociados a distinta función, también muestran distinta organización genómica. Actualmente nos encontramos explorando el repertorio de secuencias de GP63 en tripanosomátidos, en búsqueda de firmas estructurales (diversificación, asociación con transposones,

agrupamiento, eventos de recombinación/rearreglos, etc) que nos permitan esclarecer los mecanismos de evolución genómica que subyacen a la diversidad genética de esta familia. Estos hallazgos contribuirán al entendimiento del rol de estas moléculas en la biología de *T. cruzi* y del papel de la compartimentalización genómica en la generación y/o mantenimiento de diversidad de sus familias génicas.

## BP-013

### Aislamiento de Amebas de vida libre en el Río de La Plata, Ensenada, provincia de Buenos Aires.

María Guillermina Aude<sup>1</sup>, Paula Natalia Magistrello<sup>2</sup>, María Elena Costas<sup>2</sup>, María Victoria Zuliani<sup>2</sup>, Leonora Eugenia Kozubsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospital Dr Horacio Cestino, Ensenada, Argentina.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas. UNLP, La Plata, Argentina

Las amebas de vida libre (AVL) son protozoos anfitriónicos y cosmopolitas que se encuentran en distintos tipos de fuentes de agua, así como en la vegetación, suelo y polvo ambiental. Los géneros más frecuentes, con especies patógenas para el hombre y causantes de meningoencefalitis amebiana primaria, encefalitis granulomatosa amebiana o queratitis amebiana, son *Naegleria*, *Balamuthia* y *Acanthamoeba*. El objetivo del trabajo fue estudiar su presencia en aguas del Río de la Plata. Así, se estudiaron muestras de agua en cinco puntos de dicho río en la localidad de Ensenada en cada estación de 2021. Las muestras se recolectaron en frascos estériles, se registraron temperatura ambiental, viento, humedad y Georeferencia. Se midieron temperatura y pH del agua, su osmolaridad y concentración de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>. Se realizó observación directa al microscopio con y sin agregado de tinta china. Luego se cultivaron en ágar no nutritivo cubierto con una cepa de *Escherichia coli* en crecimiento exponencial, incubando a 37<sup>o</sup> C y a 42<sup>o</sup> C y observándolas por

15 días. La identificación genérica se realizó según características morfológicas microscópicas. La temperatura ambiental osciló entre 11<sup>o</sup> C y 28<sup>o</sup> C, el viento entre 6 y 16Km/h, la humedad entre 68 y 77,5%. El pH osciló entre 5,5 y 6 y la temperatura del agua entre 6<sup>o</sup> C y 28<sup>o</sup> C. La osmolaridad rondó los 5.500 mmol/Kg, las concentraciones de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> oscilaron entre 5,17 y 12,3 mEq/l y 0,56 y 0,78 mEq/l respectivamente. No se observaron amebas en el examen directo y se aislaron AVL compatibles con *Acanthamoeba* spp. en el 75 % de las muestras cultivadas a 37<sup>o</sup> C. No hubo desarrollo a 42<sup>o</sup> C, por lo que se descartó al género *Naegleria*. Los hallazgos indican condiciones favorables de crecimiento de AVL en sitios de alta concurrencia humana que se encuentra en estrecho contacto con el agua, por lo que es necesario estar alerta de esta situación.

## BP-016

### Identificación y evaluación de posibles inhibidores del transportador de arginina TcAAP3 de *Trypanosoma cruzi* mediante el uso de herramientas bioinformáticas.

Belén Maciel, Melisa Sayé, Facundo Galceran, Chantal Reigada, Marcos Rengifo, Fabio DiGirolamo, Mariana Miranda, Claudio A. Pereira

IDIM, UBA-CONICET, CABA, Argentina

La enfermedad de Chagas afecta alrededor de 7 millones de personas en Latinoamérica, y es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*. El metabolismo de *T. cruzi* se basa principalmente en el consumo de aminoácidos, tanto como fuente alternativa de carbono como reservorio de energía; este último es el ejemplo de la arginina, la cual puede convertirse en fosfoarginina por la reacción reversible de la enzima arginina quinasa (AK): arginina+ATP <-> P-arginina+ADP. Al sobre-expresar el transportador de arginina TcAAP3, se incrementan los niveles intracelulares de

arginina, y se disminuye la expresión de la AK probablemente para compensar el gran consumo de ATP, lo que sugeriría que la viabilidad celular de *T. cruzi* puede verse afectada alterando el transporte de arginina. Además, se ha reportado que la permeasa de arginina de *T. brucei*, ortóloga de TcAAP3, es esencial para la supervivencia de los tripomastigotes sanguíneos.

En este trabajo identificamos y evaluamos posibles inhibidores del transportador TcAAP3 y su potencial actividad tripanocida. Se realizó un screening virtual usando distintas bases de datos, con el fin de encontrar compuestos similares a la L-arginina. De más de 320.000 compuestos analizados con distintos algoritmos se obtuvieron 45, los cuales fueron sometidos a docking molecular empleando un modelo 3D de la permeasa TcAAP3 generado por homología. De allí se seleccionaron 5 compuestos para evaluar la capacidad de inhibir al transportador TcAAP3, y en simultáneo realizar curvas de crecimiento para estudiar la posible acción tripanocida. Sólo la isotretinoína inhibió el transporte de arginina ( $IC_{50}=2.6\mu M$ ) y además presentó acción tripanocida con una  $IC_{50}=25\mu M$  mientras que el iobenguano sólo presentó actividad tripanocida con una  $IC_{50}=182\mu M$ . Como los restantes 3 compuestos no presentaron efecto, se seleccionarán nuevos compuestos a partir del screening virtual, y además se evaluará la posible inhibición de la AK con los compuestos ya seleccionados.

## BP-017

### Pipeline para la identificación y anotación de lncRNAs en *Trypanosoma cruzi* a partir de datos de RNAseq.

Paola Sosa<sup>1,2</sup>, José Sotelo<sup>1,3</sup>, Ma Ana Duhagon<sup>2,4</sup>, Pablo Smircich<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Sección Genómica Funcional, Instituto de Biología, Facultad de

Ciencias (UdelaR), Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Sección Biología Celular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias (UdelaR), Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Departamento de Genética, Facultad de Medicina (UdelaR), Montevideo, Uruguay

*Trypanosoma cruzi* es el protozoo responsable de la enfermedad de Chagas, patología de gran importancia sanitaria en América Central y del Sur, ya que afecta a más de 8 millones de personas al año. Este parásito presenta mecanismos de regulación de la expresión génica particulares los cuales muchos de ellos no están explorados. Los ARNs largos no codificantes (lncRNA), son una clase de ARNs cuya secuencia supera los 200 nucleótidos y que poseen potencial codificante nulo o casi nulo. En diversos organismos se ha descrito que los lncRNAs tienen diversas funciones en regulación génica, diferenciación celular e interacción con ADN, ARN, proteínas y cromatina. Actualmente, no hay reporte de lncRNAs en *T. cruzi*, y la caracterización de estos ncRNAs es un área que ha sido escasamente abordada en los tripanosomátidos. En este trabajo se ha desarrollado e implementado un pipeline para identificar lncRNAs en *T. cruzi*. Este, toma sets de datos obtenidos por RNAseq de diferentes estadios del parásito, los mapea a un genoma de referencia, se ensamblan transcritos y selecciona aquellos no anotados y pseudogenes. Los últimos se evalúan calculando el potencial codificante por Coding Potential Calculator 2 (CPC2), y por métodos Random Forest con el software FIEFlexible Extraction of Long non-coding RNAs (FIElnc). Los transcritos que son resultado de la intersección de los clasificadores anteriores se analizan con el software UTRme en búsqueda de evidencia de mini-exon y poli-A. Así, se obtiene una lista de lncRNAs de *T. cruzi* anotados y curados, los cuales servirán como punto de partida para estudiar su potencial funcional, ya sea como esponjas moleculares, búsqueda de conservación evolutiva, producción de micropéptidos, entre otros. Este *pipeline* se ha implementado y ya se han identificado y anotado aproximadamente 2000 lncRNAs en el parásito.

**BP-025****Exploración funcional de clusters de genes co-expresados de *Trypanosoma cruzi*.**

Lucas Inchausti<sup>1,2</sup>, Álvaro Martín<sup>3</sup>, Leticia Pérez-Díaz<sup>1</sup>, Beatriz Garat<sup>1</sup>, José Sotelo-Silveira<sup>4,5</sup>, Pablo Smircich<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

<sup>2</sup>Laboratorio de Bioinformática, Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Instituto de Computación, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. <sup>5</sup>Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

*Trypanosoma cruzi* es un parásito protozoario que causa la enfermedad de Chagas, una enfermedad tropical desatendida que afecta a millones de personas y prolifera en entornos empobrecidos.

*T. cruzi* está caracterizado por tener un ciclo de vida complejo, que implica diferentes etapas de diferenciación.

Los genes *T. cruzi* son expresados de forma policistronica, siendo los mecanismos post-transcripcionales los principales reguladores de la expresión génica.

Los análisis de coexpresión génica son una herramienta valiosa para estudiar los cambios en los niveles de expresión de grupos de genes que interactúan funcionalmente entre sí. El objetivo de este trabajo es caracterizar nuevos mecanismos de expresión a través de la caracterización y análisis funcional de grupos de co-genes expresados utilizando datos transcriptómicos de varias etapas del ciclo de vida de *T. cruzi*.

En este contexto, hemos identificado varios grupos de genes co-expresados mediante el uso de diferentes metodologías de agrupamiento no supervisadas. Hemos optimizado estos métodos mediante el desarrollo de métricas que evalúen la agrupación funcional de genes conocidos y la

consistencia funcional global de la red. Hemos realizado un análisis de las características funcionales de los genes en cada grupo.

Esperamos que estos resultados realicen una contribución significativa a la comprensión de la biología molecular de este parásito de gran relevancia.

**BP-026****IDENTIFICACIÓN DE INHIBIDORES DE LA NUCLEÓSIDO DIFOSFATO QUINASA 1 CON ACTIVIDAD TRIPANOCIDA EN *Trypanosoma cruzi*.**

Facundo Galceran, Fabio Digirolamo, Melisa Sayé, Chantal Reigada, Marcos Rengifo, Belen Maciel, Claudio Pereira, Mariana Miranda

IDIM-UBA-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

El nucleósido difosfato quinasa (NDPKs) participan en la homeostasis intracelular de nucleótidos; son consideradas multifuncionales ya que están involucradas en numerosos procesos claves para la supervivencia de las células. La TcNDPK1 es una isoforma presente en *Trypanosoma cruzi*, que además de ser multifuncional, en los tripanosomátidos cumple un rol central en el metabolismo de nucleótidos y reciclado de purinas dado que estos organismos carecen de síntesis de purinas de novo. Esta diferencia respecto del hospedador mamífero hace que las NDPKs sean atractivos blancos moleculares.

En el presente trabajo iniciamos una búsqueda de inhibidores de la TcNDPK1 mediante estrategias computacionales de reposicionamiento de drogas. Utilizando diferentes bases de datos conteniendo 12,000 compuestos aprobados para humanos, realizamos una búsqueda por similitud de ligando partiendo de inhibidores conocidos reportados en la bibliografía y, a la vez, aplicamos la técnica de docking molecular basada en el receptor, empleando la estructura tridimensional de la TcNDPK1 y modelos

derivados de la misma. De ambas búsquedas obtuvimos más de 50 compuestos prometedores de los cuales el nebivolol y el telmisartán fueron evaluados. El nebivolol tuvo mayor actividad tripanocida sobre epimastigotes, trypomastigotes y estadios intracelulares ( $IC_{50}^{epis} = 19 \mu M$ ,  $IC_{50}^{trypos} = 5.8 \mu M$ ,  $IC_{50}^{liberacion/trypos} = 2.2 \mu M$ ), pero menor efecto inhibitorio de la actividad enzimática ( $IC_{50}^{NDPK} = 1 mM$ ). Por su parte, el telmisartán tuvo un efecto menor sobre los parásitos ( $IC_{50}^{epis} = 57 \mu M$ ,  $IC_{50}^{trypos} = 44 \mu M$ ,  $IC_{50}^{liberacion/trypos} = 15 \mu M$ ), pero mayor sobre la actividad enzimática ( $IC_{50}^{NDPK} = 192 \mu M$ ). Las  $IC_{50}$  calculadas sobre epimastigotes transgénicos que sobre-expresan la TcNDPK1 sugieren que la enzima es blanco de los compuestos. Sin embargo, los resultados obtenidos indican que existirían también otros blancos posibles. Los estudios continúan en curso.

## BP-027

### Estudios de transcriptómica comparativa en amastigotas axénicas versus amastigotas celulares de *Trypanosoma cruzi*.

Lucía Bilbao<sup>1,2</sup>, Beatriz Garat<sup>2</sup>, José Sotelo<sup>1,2</sup>, Leticia Pérez<sup>2</sup>, Pablo Smircich<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>IIBCE, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay

*Trypanosoma cruzi* es el agente causante de la enfermedad de Chagas, un serio problema de salud pública en gran parte de la población de las Américas. Este organismo tiene un ciclo de vida complejo alternando entre formas que viven en el insecto vector y formas que infectan el hospedero mamífero. En particular, la forma epimastigota presente en el aparato digestivo del insecto es el estadio más frecuentemente utilizado como modelo de laboratorio dada la practicidad de su cultivo. Sin embargo, preguntas específicas y relevantes para los

modelos de la patología de la enfermedad crónica requieren de las formas intracelulares (amastigotas) y por lo tanto se han desarrollado métodos para su producción tanto *in vitro* (axénicos) como *in vivo* (celulares). Aunque los protocolos de amastigogénesis *in vitro* resultan más prácticos, su validez biológica ha sido cuestionada por la comunidad. En este proyecto se pretende caracterizar desde el punto de vista transcriptómico los amastigotas celulares y los axénicos, distinguiendo perfiles diferenciales que permitan evaluar los últimos como modelo molecular en diferentes tipos de preguntas biológicas. El modelo de amastigota axénico propuesto presentó características similares a los celulares en cuanto a la esperada regulación negativa de proteínas flagelares y glicoproteínas de superficie, mientras que los procesos vinculados a la división celular y proliferación, metabolismo del proteasoma y sobrevivencia del parásito, no fueron recapitulados por este modelo. Interesantemente, algunos de los resultados apuntan a que podrían representar fases iniciales del proceso de diferenciación. Actualmente nos encontramos optimizando el protocolo de amastigogénesis axénica mediante la evaluación de procesos metabólicos característicos de amastigotas celulares haciendo uso de marcadores moleculares definidos a partir de las listas de genes diferenciales obtenidas en los resultados anteriores.

## BP-028

### Generación de herramientas para la sincronización en parásitos Apicomplejos.

Fabiana González<sup>1,2</sup>, María Eugenia Francia<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología de Apicomplejos, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Departamento de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La replicación celular en parásitos Apicomplejos constituye su principal mecanismo de patogenicidad. Por esto, comprender la regulación del ciclo celular es central para la identificación de dianas esenciales para el avance del proceso. Sin embargo, su estudio se encuentra fuertemente limitado ya que, en cultivo celular, cerca del 80% de los parásitos se encuentran en G1. La baja frecuencia de parásitos en fases S y M limita el entendimiento de los eventos que conllevan a la generación de nuevos parásitos. A diferencia de las células de mamíferos cuyos ciclos celulares pueden sincronizarse químicamente, no existen herramientas en parásitos Apicomplejos que lo permitan. Con el fin de generar esta herramienta, utilizamos *Toxoplasma gondii* como modelo del filo. *T. gondii* controla las diferentes fases del ciclo celular a través de factores solubles y anclajes físicos asociados al centrosoma, coordinando en tiempo y espacio la división celular. Para esto, generamos cepas “sincronizables” a través de la fusión endógena de ciclinas y kinasas con proteínas fluorescentes. Se seleccionaron ciclinas y kinasas con perfiles de expresión fluctuantes a lo largo del ciclo celular, cuyos picos de expresión sean en diferentes momentos del ciclo. La fusión de estos factores fluctuantes a proteínas fluorescentes nos va a permitir determinar el momento del ciclo celular en el que se encuentran los parásitos y obtener poblaciones sincronizadas enriquecidas por cell sorting. Estas poblaciones sincronizadas nos permitirán generar librerías de ADN complementario, para ensayos de doble híbrido de levadura que permitan identificar interactores ciclo-celular específicos de proteínas de interés. A su vez, serán utilizadas en ensayos de RNA-seq, permitiéndonos mapear la expresión génica específica de cada estadio del ciclo celular y generar información fundamental con resolución temporal de los mecanismos moleculares que subyacen la división celular exitosa en este parásito.

## BP-029

### Modificaciones de la membrana de eritrocitos humanos expuestos a *Plasmodium falciparum* relacionadas con el metabolismo de ATP extracelular.

Renata Blanco<sup>1</sup>, Nicolás Saffioti<sup>2</sup>, Pablo Julio Schwarzbaum<sup>1</sup>, Cora Lilia Alvarez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IQUIFIB, - Instituto de Química y Físico-Química Biológicas “Prof. Alejandro C. Paladini”, Universidad de Buenos Aires (UBA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)., Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>- Instituto de Nanosistemas. Universidad Nacional de San Martín, Buenos Aires, Argentina

La infección de glóbulos rojos (GR) por *Plasmodium falciparum* promueve la agregación y la adhesión de glóbulos rojos infectados (GRi) al endotelio vascular, causando obstrucciones que impiden el flujo sanguíneo. Los GR transportan oxígeno y regulan el tono vascular a través de la liberación de ATP. La enfermedad transcurre con parasitemia baja (3-4%); de manera tal que ~96% de la población de GR son no infectados (GRni). Previamente demostramos que los GRni exhiben incrementos en la concentración de ATP extracelular (ATPe), que depende de la liberación de ATP intracelular y de la hidrólisis de ATPe por ectonucleotidasas.

El objetivo de este trabajo es estudiar la deformabilidad y la capacidad de agregación de GRni y su asociación con el ATPe. La hipótesis es que los GRi modifican la membrana plasmática de los GRni afectando la deformabilidad y la agregación con consecuencias sobre la homeostasis del ATPe.

Los GR se cultivaron por 48 horas en presencia de *P. falciparum* (NF54), a partir de estos cultivos se purificaron los GRni. Las determinaciones de ATPe se realizaron por luminiscencia. La deformabilidad se estudió en un dispositivo que mimetiza las sinusoides del bazo cuantificando el ATP antes y después del evento de deformación mecánica. La agregación inducida por plasma

sanguíneo se determinó por espectrofotometría y por microscopía óptica.

Los resultados mostraron que la deformabilidad produjo un aumento en la [ATPe] entre 4 y 6 veces sobre los valores basales tanto en GRni como en GR control; es decir, cultivados en ausencia de *P. falciparum*. En GR control, la agregación aumentó en presencia de concentraciones crecientes de plasma. ATP y AMP exógenos no modificaron la agregación, mientras que el ADP promovió la agregación de manera similar al control positivo. Experimentos similares están siendo desarrollados con GRni para entender su rol en las obstrucciones vasculares y la anemia, que son las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad.

### BP-035

#### **La expresión heteróloga de las isoformas Dot1a y Dot1b de *Trypanosoma cruzi* rescata el fenotipo salvaje en levaduras mutantes condicionales.**

María del Rosario López, Guillermo Alonso, Josefina Ocampo

INGEBI, Buenos Aires, Argentina

*Trypanosoma cruzi* posee un ciclo de vida complejo, alternando entre un insecto vector y un mamífero hospedador. Durante esa alternancia sufre cambios que requieren de una regulación génica precisa. Si bien en *T. cruzi* la principal regulación de la expresión génica es post transcripcional, la transcripción puede modularse por modificaciones post traduccionales de histonas que alteran la cromatina y afectan la compactación del ADN. *T. cruzi* cuenta con dos isoformas de las proteínas metiltransferasas Dot1 que metilan la lisina 76 de la histona H3. Mediante estudios previos de cepas doble y simple knockout para dichos genes, se describió que TcDot1a, es responsable de mono y di metilar, y TcDot1b, principalmente de tri metilar. Sin embargo, sus respectivas

actividades enzimáticas aún no fueron evaluadas de manera independiente.

Para comprender mejor la capacidad de cada una de llevar a cabo la actividad metiltransferasa, se transformó la cepa mutante de *S. cerevisiae*, *dot1Δ*, con las proteínas TcDot1a y TcDot1b, por separado, clonadas en el plásmido pRS416. Ambas fueron etiquetadas con hemaglutinina (HA) posibilitando la confirmación de su expresión mediante Western blot. La cepa *dot1Δ* es resistente al golpe de calor. Con el fin de evidenciar si la incorporación de cada proteína de *T. cruzi* puede rescatar dicho fenotipo, se expusieron las levaduras transformadas a un heat shock seguido de una incubación a 30° por 48 horas. Pudimos observar que la incorporación de ambas proteínas, de manera independiente, rescatan el fenotipo observado en la *dot1Δ*; otorgándole sensibilidad al golpe térmico. Como control se utilizó la cepa BY4741 wild type.

Con los resultados obtenidos podemos concluir que ambas proteínas tendrían capacidad metiltransferasa independientemente de la presencia de la otra isoforma. Para poder corroborar el patrón de metilación mediado por cada una, complementaremos este estudio analizando los niveles de metilación de H3K76 con anticuerpos específicos.

### BP-036

#### **Análisis de expresión de las metiltransferasas putativas TcSET20 y TcSET23 en los distintos estadios del ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*.**

Santiago Carena, Arturo Muñoz-Calderón, Guillermo Alonso, Josefina Ocampo

INGEBI, Buenos Aires, Argentina

*Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas, posee un ciclo de vida que alterna entre un insecto vector y un reservorio vertebrado, exponiéndose a cambios abruptos



en su entorno. Como respuesta a estos cambios, el parásito es capaz de alternar entre tres estadios bien definidos: epimastigote, forma replicativa extracelular presente en el insecto; tripomastigote, forma infectiva no replicativa; y amastigote, forma replicativa intracelular, capaz de diferenciarse nuevamente al estadio tripomastigote y lisar la célula comenzando un nuevo ciclo. Su alternancia entre estadios involucra cambios en la expresión génica, regulados mayormente a nivel post-transcripcional. No obstante, está en parte modulada a nivel epigenético, mediante modificaciones post-traduccionales de histonas. Dentro de los modificadores de histonas, se encuentran las metiltransferasas SET. En el genoma de *T. cruzi* existen diversos genes de esta familia, sin embargo, no han sido caracterizadas hasta el momento. En este trabajo nos enfocamos en estudiar TcSET20 y TcSET23 por presentar propiedades conservadas respecto a SETs prototípicas estudiadas en otros organismos. Para comenzar la caracterización, evaluamos la expresión de sus ARN mensajeros (ARNm) mediante RT-PCR. Utilizando parásitos de la cepa CL Brener, comprobamos que ambos ARNm se expresan en los estadios de epimastigote y tripomastigote. Adicionalmente, pudimos evidenciar mediante clonado y secuenciación de los amplicones obtenidos, que el ARNm correspondiente a TcSET23 posee dos isoformas que serían producto de un proceso de trans-splicing alternativo, difiriendo únicamente en el largo de la región 5' no codificante. Como estudios complementarios, analizaremos la expresión mediante RT-PCR cuantitativa y lo extenderemos al estudio de amastigotes. En paralelo, hemos clonado los genes de ambas TcSETs en estudio en el vector pTcINDEX-GFP para iniciar la caracterización de sus funciones biológicas mediante sobreexpresión.

### BP-038

#### **Medición de los niveles de $\alpha$ -tubulina acetilada mediante citometría de flujo en *Trypanosoma cruzi*.**

Gonzalo Martínez Peralta<sup>1,2</sup>, Victoria Lucia Alonso<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>IBR-CONICET, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR), Rosario, Argentina

Los tripanosomátidos tienen un citoesqueleto altamente ordenado que está organizado y constituido por microtúbulos estables. La isoforma más abundante en todas las estructuras microtubulares de estos protozoos es la  $\alpha$ -tubulina acetilada en la lisina 40 (K40). TcATAT es acetiltransferasa responsable de acetilar  $\alpha$ -tubulina en *T. cruzi* y hemos visto que el correcto balance de los niveles de acetilación de los microtúbulos es crucial para la progresión del ciclo celular y la diferenciación en este parásito. La Tricostatina A (TSA) es un compuesto derivado del ácido hidroxámico, capaz de unirse irreversiblemente al sitio activo de las lisinas desacetilasas (KDACs), impidiendo su unión a histonas y provocando su hiperacetilación. En el caso de *T. cruzi*, se ha reportado también un incremento en el grado de acetilación de la tubulina al tratar con TSA aunque no se conoce con exactitud cuál es la KDAC responsable de desacetilar tubulina.

Al ser la isoforma acetilada la más abundante, es difícil poder cuantificar cómo cambia el porcentaje de esta isoforma al alterar sus niveles ya sea mediante el uso de compuestos químicos o manipulación genética. En este trabajo se llevó optimizo su cuantificación mediante un ensayo de citometría de flujo de epimastigotes de la cepa Dm28c (Control), incubados con TSA 50  $\mu$ M durante 48 hs y sobreexpresantes de TcATAT inducidos con tetraciclina 0,5  $\mu$ g/mL durante 48 hs. Se utilizaron anticuerpos primarios anti  $\alpha$ -tubulina y anti  $\alpha$ -tubulina acetilada de ratón y anti-ratón conjugado a FITC. Los valores de fluorescencia media se relativizaron al control. Al analizar los datos observamos un incremento en el grado de acetilación de los microtúbulos luego del tratamiento con TSA. También se verificó un incremento en los sobreexpresantes de TcATAT. Esta técnica resultó muy útil para estandarizar la cuantificación de la isoforma de tubulina acetilada y puede luego utilizarse para la medición de los niveles de otras isoformas o isotipos de tubulina.

**BP-039****Estudio del gen TcZonda, un posible regulador de autofagia en *Trypanosoma cruzi*.**

Juan Manuel Olivera, Guillermo Daniel Alonso, Alejandra Cecilia Schoijet

INGEBI - CONICET, Buenos Aires, Argentina

La autofagia es un proceso evolutivo conservado por el cual las células eucariotas degradan sus componentes citoplasmáticos para obtener energía. Si bien se cree que este proceso ha surgido principalmente como una respuesta al estrés nutricional en los organismos unicelulares, en organismos multicelulares la autofagia ha sido también relacionada con numerosas enfermedades. Se conoce muy poco acerca de la autofagia en protistas y menos aún de su implicancia biológica.

En *Trypanosoma cruzi*, se observó que los niveles de autofagia aumentan ante el estrés nutricional y que se produce un aumento de la autofagia durante la diferenciación de epimastigotes a tripomastigotes. De este modo, dado que los cambios repentinos en su entorno y el proceso de diferenciación en *T. cruzi* son esenciales para la sobrevivencia del parásito, la vía autofágica puede ser un target prometedor para la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos para la Enfermedad de Chagas.

Recientemente se ha caracterizado una inmunofilina en *Drosophila melanogaster*, denominada Zonda (Zda), la cual es críticamente necesaria para la autofagia inducida por estrés nutricional. Con el objetivo de identificar nuevos componentes en la vía autofágica de *T. cruzi*, realizamos búsquedas bioinformáticas en la base de datos TriTrypDB, identificando dos candidatos con alta identidad a Zda, que difieren en su longitud en pares de base pero que comparten sus dominios funcionales. En primer lugar verificamos el transcripto correcto mediante RT-PCR a partir de RNA de epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes de *T. cruzi*, corroborando además su expresión en

los tres estadios del parásito. Posteriormente el gen correspondiente denominado TcZonda fue amplificado por PCR y subclonado en el vector inducible pTcIndex y en el vector pRibotex. Ambas construcciones se utilizaron para transfectar epimastigotes de *T. cruzi*. Estos estudios permitirán profundizar el conocimiento de una vía importante para la sobrevivencia del parásito.

**BP-040****Rol de la aldo ceto reductasa de *Trypanosoma cruzi*, TcAKR, en la resistencia al Benznidazol: Estudios de inhibición enzimática.**

Patricia Garavaglia<sup>1</sup>, Laura Tasso<sup>2</sup>, Julián Scotti<sup>1</sup>, Joaquín Cannata<sup>2</sup>, Gabriela García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INP “Dr. Mario Fátala Chaben”-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran”, CABA, Argentina. <sup>2</sup>IIB UNSAM, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Tanto nifurtimox (Nx) como benznidazol (Bz) han sido utilizados por más de 40 años para el tratamiento de la forma aguda de la enfermedad de Chagas, producida por el agente etiológico *Trypanosoma cruzi*. Sin embargo, aún no es claro el mecanismo de acción de dichos compuestos. Hasta el momento la nitroreductasa *de tipo I*, es la única enzima validada como activadora de dichas drogas. No obstante, en nuestro laboratorio hemos identificado y caracterizado la aldo-ceto reductasa (AKR) de *T. cruzi* (TcAKR), una enzima NADPH dependiente capaz de interactuar con el Bz y reducirlo. Estudios con parásitos que sobre-expresan esta enzima sugieren su participación en la resistencia al Bz. Con el fin de validar dicha participación en este mecanismo, se planteó como estrategia la inhibición farmacológica de la TcAKR.

Para ello, se evaluó el efecto inhibitorio de los siguientes compuestos: Quercetina, Ác. Flufenámico, Fenolftaleína y Menadiona, sobre las actividades AKR (sustrato: 4-NBA) y quinona-óxido reductasa (QOR) (sustrato: 1,2-NQ) de la TcAKR. La Quercetina y el Ác. Flufenámico fueron los inhibidores más potentes obteniendo entre 100 y 47.5% de inhibición, respectivamente; en presencia de una concentración 100 µM de

dichos compuestos. Ambos mostraron una inhibición *No competitiva* de la actividad AKR, con constantes de inhibición ( $K_i$ ) de  $8,7 \pm 0,68 \mu\text{M}$  y  $35,04 \pm 3,62 \mu\text{M}$ , respectivamente. En cuanto a la actividad QOR de la TcAKR, cuya cinética es sigmoidea, las concentraciones inhibitorias 50 (IC50) de la Quercetina y el Ác. Flufenámico fueron  $3,36 \pm 0,3$  y  $51,36 \pm 1,22 \mu\text{M}$ , respectivamente.

Por otro lado, una concentración  $5 \mu\text{M}$  de Quercetina logró disminuir el IC50 para el Bz de epimastigotes transfectados que sobre-expresan la TcAKR de  $17,45$  a  $9,9 \mu\text{M}$ , equiparando el valor de IC50 de los epimastigotes *wild type*.

Este resultado es un nuevo indicio de la participación de la TcAKR en los mecanismos de resistencia al Bz, posiblemente a través de la detoxificación de esta droga.

### BP-043

#### Caracterización de una proteína de unión a AMPc con potencial actividad de Purine Nucleoside Phosphorylase de *Trypanosoma cruzi*.

Jose Leonardo Escalona, Guillermo Di Mario, Martin Edreira  
IQUIBICEN/UBA, CABA, Argentina

El *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico del Chagas, contiene en su genoma varios genes que codifican para proteínas con dominios de unión a AMPc (CNB). Dado que el AMPc es un mensajero muy importante en varias vías de señalización en mamíferos y a que en parásitos muchas de estas vías no existen, se plantea la caracterización de éstas proteínas como potenciales efectores de esta vía en *T. cruzi*. Una de ellas, anotada en TritypDB con el ID TcCLB.504449.20, codifica para una proteína hipotética de 970 residuos que fue clonada y expresada en *E. coli*. En ensayos de unión y desplazamiento a una resina de AMPc-Agarosa, se comprobó la capacidad de la proteína recombinante de unir específicamente AMPc. En la búsqueda de una posible función se procedió

a realizar análisis *in silico* utilizando modelados por homología y la herramienta Alpha Fold, encontrándose tres dominios, el CNB propiamente dicho ubicado hacia el N-terminal, un dominio homólogo a una Fosforilasa de Nucleósidos de Purina (PNP) y entre ambos dominios, una región de dimerización. La proteína recombinante fue capaz de formar dímeros al ser entrecruzada con formaldehído. Más adelante se espera caracterizar la actividad fosforilasa y analizar si la presencia del CNB modula la actividad de dicha enzima.

### BP-044

#### Análisis del rol de las diferentes subfamilias de amastinas de *Trypanosoma cruzi* en el proceso de infección.

Antonella Goyeche, Leticia Pérez, Florencia Mosquillo

Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay

Los tripanosomátidos son parásitos eucariotas unicelulares causantes de enfermedades vectoriales en humanos como la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), la enfermedad del sueño (*Trypanosoma brucei*) y las leishmaniasis (*Leishmania* spp.). Son consideradas enfermedades tropicales descuidadas debido a que son endémicas de países subdesarrollados, constituyendo problemas para la salud pública. Durante su ciclo de vida, *T. cruzi* alterna entre 2 hospederos, un insecto vector y un hospedero mamífero, atravesando diferentes estadios diferenciados.

Las Amastinas son una familia de proteínas hidrofóbicas. Existen 4 grupos:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -amastinas según posición genómica, estructura y evolución. En *T. cruzi* solo se encontraron  $\beta$ -, y  $\delta$ -amastinas, a diferencia de otros tripanosomátidos. Análisis filogenéticos revelaron la existencia de un tercer grupo no reportado, el cual denominamos  $\omega$ -amastinas, con origen más ancestral (datos no publicados). Trabajos previos determinaron niveles de

expresión diferencial entre  $\delta$ -amastinas y  $\beta$ -amastinas lo que sugiere que estas subfamilias podrían cumplir funciones diferentes en el parásito.

El objetivo del trabajo es analizar el rol de amastinas como factor de virulencia en *T. cruzi*, estudiando su rol en la infección y persistencia. Se usará CRISPR-Cas9 para deletar cada uno de los 3 grupos de amastinas para estudiar función en la infección. Se diseñaron los ARNs guía para dirigir el corte por la enzima Cas9 a regiones cercanas al codon de inicio de los genes de las  $\beta$ -,  $\delta$ - y  $\omega$ -amastinas y se clonaron en el vector sgRNA/Cas9/pTREX-n.

Por phusion PCR se están generando ADN donador conteniendo gen de resistencia a hygromicina flanqueado por las regiones 5' y 3' homólogas al gen de interés.

Se estudiará rol de las amastinas en la infección y persistencia de la misma usando parásitos knock out obtenidos por transfección del ARNgua y el aDN donador correspondiente.

## BP-045

### Estudio de la composición de la maquinaria traduccional de *Trypanosoma cruzi*: re-anotación y aproximaciones ómicas.

Martín Rivara Espasandín<sup>1,2</sup>, Santiago Radío<sup>3</sup>, Pablo Smircich<sup>1,4</sup>, José Sotelo Silveira<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC, Montevideo, Uruguay.

<sup>2</sup>Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

<sup>3</sup>Institute of Evolutionary Biology (CSIC-Universitat Pompeu Fabra), Barcelona, Spain. <sup>4</sup>Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>5</sup>Departamento de Biología Celular y Molecular, Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, tiene una regulación de la expresión génica principalmente post-transcripcional. Nuestro grupo ha

observado que la regulación traduccional es un mecanismo importante durante la metacicloogénesis. Dado que se ha descrito en otros modelos biológicos que la composición de los ribosomas podría ser variable a nivel proteico y a su vez tendría impacto a nivel regulatorio, planteamos realizar un estudio detallado de la composición de la maquinaria traduccional de *T. cruzi* en los estadios epimastigota y tripomastigota metacíclico. Primero, revisamos y pulimos la anotación de proteínas ribosomales (PR) y proteínas asociadas al ribosoma. Esta re-anotación, incluye el análisis de número de copias, ubicación en el ribosoma, extensiones en extremos terminales, niveles de expresión, posibles funciones extra-ribosomales, etc. Con esta aproximación logramos depurar la anotación existente y sistematizar la información. Abordando el problema de forma experimental, observamos mediante *ribosome profiling* que, si bien existe una represión global de la traducción de los ARNm de PR en el estadio tripomastigota metacíclico, esta es variable, encontrando algunos que resisten la represión global observada. Esta observación podría ir en línea con una composición diferencial de la maquinaria traduccional durante la metacicloogénesis. Para profundizar en esta hipótesis, decidimos realizar un estudio proteómico de la maquinaria traduccional en ambos estadios involucrados. Logramos aislar fracciones enriquecidas tanto en monosomas como en polisomas en ambos estadios, mediante ultracentrifugación diferencial en gradiente de sacarosa. Estas fracciones serán analizadas por espectrometría de masas, buscando comparar abundancias relativas de las PR y proteínas asociadas al ribosoma tanto entre estadios como entre fracciones asociadas a diferentes niveles de expresión (monosomas y polisomas).

## BP-046

### Evaluación *in vitro* de inhibidores de cruzipaina (CZP) derivados del núcleo 1,2,3-triazol como potenciales

## agentes contra la infección por *Trypanosoma cruzi*.

Salomé C. Vilchez Larrea<sup>1</sup>, Juan Pablo Cerutti<sup>2,3</sup>, Win Dehaen<sup>3</sup>, Guillermo D. Alonso<sup>1</sup>, Mario A. Quevedo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INGEBI-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Química Medicinal (MedChemLab), UNITEFA-CONICET - Facultad de Ciencias Químicas - Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Laboratory of Organic Synthesis, LOSA – Department of Chemistry - KU Leuven, Lovania, Belgium

Cruzipaína (CZP) es una enzima perteneciente a la familia multigénica de cisteín-proteasas presentes en *Trypanosoma cruzi*, para la cual se han descrito diversas funciones esenciales tales como la participación en la diferenciación metaciclogénica de *T. cruzi*, en la invasión celular y como factor de virulencia y modulador de la respuesta de los macrófagos ante la infección. Dado el rol imprescindible de CZP para el ciclo de vida del parásito, esta enzima constituye un blanco terapéutico con gran potencial para el desarrollo de inhibidores de naturaleza peptidomimética tanto reversibles como irreversibles. En un trabajo previo se han empleado técnicas de diseño de fármacos basado en estructuras para realizar un *screening* de candidatos a inhibidores de CZP que contienen el grupo 1,2,3-triazol 1,4-disustituido, fundamentado en una estrategia de reemplazo bioisotérico no clásico del enlace peptídico. En el presente trabajo se reportan los resultados obtenidos para la evaluación de actividad biológica de los 32 candidatos sintetizados más prometedores. Dicha evaluación se llevó a cabo empleando modelos de infección *in vitro* utilizando células Vero como células hospedadoras y tripomastigotes de la cepa Tulahuen que expresan la proteína  $\beta$ -galactosidasa. La determinación de los niveles de infección relativos en base a la actividad del gen reportero demostró que ~25% de los inhibidores diseñados y sintetizados poseen actividad contra la infección celular, disminuyendo en al menos un 50% la infección total a una concentración de 10  $\mu$ M sin afectar significativamente la viabilidad

de la célula hospedadora. De los resultados obtenidos, se diseñó una librería enfocada en el inhibidor irreversible más prometedor, orientado a la obtención de nuevas entidades químicas, refinando las relaciones cuantitativas estructura-actividad involucradas en una subcavidad particular del sitio catalítico de CZP.

## BP-047

### Fragmentos derivados de snoRNAs y snRNAs asociados a las fracciones ribosomales (rancRNAs) en tripanosomátidos.

Rafael Fort<sup>1,2</sup>, Juan Trinidad<sup>1,2,3</sup>, María Ana Duhagon<sup>2,3</sup>, José Sotelo-Silveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>IIBCE, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

La ausencia de regulación de la transcripción en los tripanosomátidos sitúa a la regulación postranscripcional de expresión génica como fundamental para modular los niveles de la producción de proteínas. Recientemente se reportó la existencia de ncRNAs (específicamente, mitades de tRNAs) capaces de asociarse a ribosomas y modular la traducción en *T. brucei*, los llamados rancRNAs (sigla proveniente del inglés: ribosome-associated ncRNAs). Los rancRNAs representan una clase emergente de ncRNAs reguladores de la traducción, que son rápidos y eficientes por su unión directa a los ribosomas. En levaduras fue incluso descrita la presencia de rancRNAs (en este caso, fragmentos derivados de snoRNAs) capaces de modular la traducción global. El conjunto de estos antecedentes motivó extender el estudio de rancRNAs en las fracciones polisomales de *T. cruzi* y *T. brucei*, basándonos en la hipótesis de la existencia de estos ncRNAs producidos a partir de otros ncRNAs (tRNAs, snoRNAs, snRNAs, etc) que serían capaces de asociarse a la fracción ribosomal y modular la traducción. Para ello

partimos de una base de datos de anotación abarcativa para secuencias de diferentes ncRNAs. Posteriormente establecimos la abundancia de los diferentes fragmentos derivados de ncRNAs mediante el re-análisis de datos de Ribo-seq de *T. cruzi* y *T. brucei*. De esta manera, identificamos fragmentos derivados de snoRNAs y snRNAs que mostraron abundancias diferenciales en las transiciones del ciclo celular (G1 vs S/G2) y de la diferenciación (Epimastigota vs Metacíclico) de *T. cruzi*, así como diferentes estadios y condiciones de crecimiento en *T. brucei*. El conjunto de estas observaciones, ponen de manifiesto la presencia y desregulación de fragmentos derivados de snoRNAs y snRNAs, asociados a las fracciones ribosomales/polisomales en los tripanosomátidos.

## BP-048

### Estudio comparativo entre tripanosomátidos revela una organización conservada de la cromatina alrededor del sitio aceptor de *trans-splicing*.

Romina Trinidad Zambrano Siri<sup>1</sup>, Paula Beati<sup>1</sup>, Pablo Smircich<sup>2,3</sup>, Guillermo Daniel Alonso<sup>1,4</sup>, Josefina Ocampo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, FCEN-UBA, Buenos Aires, Argentina

*Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei* y *Leishmania major*, comúnmente conocidos como TriTryp, son causantes de enfermedades animales y humanas. Se caracterizan por tener ciclos de vida complejos, alternando entre un hospedador mamífero y un insecto vector. En este trabajo, realizamos un análisis comparativo de la organización de la cromatina en todo el genoma y su potencial impacto en la expresión

génica para los estadios presentes en el vector. Dado que se ha reportado que en los TriTryp los nucleosomas se organizan en torno al sitio aceptor del *trans-splicing* (TAS), realizamos una predicción de los TAS más probables para los tres organismos y los usamos como punto de referencia para analizar la organización global de la cromatina. Corroboramos que *L. major* y *T. cruzi* presentan una menor densidad de nucleosomas en el TAS, en contraposición con *T. brucei* que presenta un leve aumento como se describió previamente. Al analizar los datos de ChIP-seq de la histona H3, comprendimos que la protección del TAS en *T. brucei* se debe a un complejo carente de histonas. Por otra parte, demostramos que la organización de nucleosomas alrededor del TAS no es solo un promedio, ya que se conserva el mismo patrón en la mayor parte del genoma y mediante un análisis hebra-específico notamos que la menor densidad de nucleosomas no está exactamente en el TAS, sino unos pocos pares de bases río arriba. Además, buscamos grupos de genes mediante *k-means* usando como variables predictoras los valores de densidad de nucleosomas y ARNm respecto al TAS. Observamos una distribución homogénea de la densidad promedio de nucleosomas en los tres organismos, excepto un subconjunto de genes con una densidad inusualmente alta en *T. cruzi*. A partir del análisis de RNA-seq, obtuvimos grupos de genes bien definidos para los tres organismos respaldados por altos valores de *silhouette*. Estamos realizando análisis de ontología y de vías metabólicas de esos genes con características distintivas.

## BP-049

### IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE FAMILIAS MULTIGÉNICAS IN SILICO EN *Toxoplasma gondii* Y *Neospora caninum*.

Joaquín Pereira<sup>1</sup>, Luisa Berná<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de genómica evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

<sup>2</sup>Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay

El phylum Apicomplexa comprende un grupo heterogéneo de protozoarios unicelulares; todos parásitos intracelulares obligados de importancia para la salud humana y animal. Particularmente *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* son especies cercanamente emparentadas que comparten varias características morfológicas y biológicas, diferenciándose principalmente en su virulencia, por sus hospederos intermediarios y definitivos, siendo *T. gondii* una especie zoonótica con un amplio rango de hospederos, mientras que *N. caninum* infecta principalmente a caninos, bovinos y otros animales de granja. Estas diferencias se han relacionado con la divergencia en factores de virulencia secretados y en el número de genes de familias de proteínas antigénicas de superficie como la familia de antígenos de superficie (SRS), y otras relacionadas con el complejo apical y la invasión celular (ROP, MIC, GRA). Este estudio realiza una caracterización de distintas familias multigénicas a partir de los genomas de *T. gondii* y *N. caninum*, con énfasis en la familia SRS. Para esto se elaboró un pipeline automático usando los lenguajes Bash, Python y R que clusteriza, busca y selecciona grupos de genes por homología, realizando un análisis a nivel de secuencia y filogenético, con el apoyo de distintas visualizaciones (histogramas, mapas de calor, dendrogramas y filogramas). Se identificaron un total de 398 clusters (mínimo 5 genes) en *N. caninum* y 506 en *T. gondii*. Sin embargo, el número de clusters obtenidos relacionados a SRS, ROP, GRA y MIC es mayor en *N. caninum*, coincidente con resultados previos. Este aumento se debe principalmente a la expansión de la familia SRS en *N. caninum*, identificándose tres clusters de genes SRS no presentes en *T. gondii*. Estos resultados son coincidentes con estudios previos que sugieren que variaciones en el número de integrantes de esta familia son uno de los responsables de las diferencias en el rango de hospederos de *T. gondii* y *N. caninum*.

## BP-051

### Estudio de la interacción entre dos isoenzimas de Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de *Echinococcus granulosus* y tres bisfosfonatos *in silico*.

Facundo Ariel Agüero<sup>1,2</sup>, Andrea Maglioco<sup>1,2</sup>, Jorge R Cantero Piñanez<sup>3,4</sup>, Margot Paulino<sup>3</sup>, Emilio JA Roldán<sup>1</sup>, Alicia Graciela Fuchs<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Universidad Abierta Interamericana. Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Experimentación, Teoría de la Estructura de la Materia y sus Aplicaciones, Facultad de Química, Bioinformática DETEMA-Udelar, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Este, Minga Guazú, Paraguay. <sup>5</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatale-Chaben”, ANLIS-Malbrán, Buenos Aires, Argentina

La equinococosis quística es una zoonosis de distribución mundial causada por la larva del cestode *Echinococcus granulosus*. Es de denuncia obligatoria en Argentina y se confirmaron 630 casos en 2018-2019. La línea celular EGPE, generada desde protoescólices de un quiste hepático bovino forma colonias quísticas en agarosa. Los bisfosfonatos (BF) son compuestos análogos del pirofosfato (PP<sub>i</sub>), utilizados para el tratamiento de enfermedades óseas y otras patologías, que poseen actividad antiproliferativa sobre EGPE. La GAPDH es una oxidoreductasa del sexto paso de la glicolisis, que cataliza la conversión reversible del gliceraldehído-3-fosfato en 1,3-bisfosfoglicerato, reduciendo el NAD<sup>+</sup> y utilizando fosfato (P<sub>i</sub>). Se describieron varias isoenzimas con localización diferencial en otros organismos. Hemos encontrado dos GAPDH de *E. granulosus* por columna de afinidad de anticuerpos de pacientes e identificadas por proteómica. Una fue localizada en el homogenato celular de EGPE (W6UJ19, H) y la otra en el sobrenadante de colonias en agarosa (W6V1T8, S). Los efectos

antiproliferativos de los BF etidronato (EHDP) e lbandronato sobre EGPE fueron atribuidos a la modulación del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y a la disminución de ATP. En este trabajo estudiamos in silico la interacción de varios BF sobre el sitio activo de las GAPDH. Las isoenzimas difieren en su punto isoeléctrico (H: 7,56; S: 8,44) y lipofilicidad (GRAVY, H: -0,1; S: 0,004). Por dinámica molecular y estimación de  $\Delta G$  (MMPBSA) en presencia de  $\text{NAD}^+$  se observó que sólo la GAPDH-H tuvo afinidad con el EHDP en el sitio activo en presencia del sustrato en forma estable en 12 estimaciones:  $\Delta G$ : H:  $-3,63 \pm 2,77$  Kcal/mol y S:  $1,58 \pm 3,23$  Kcal/mol (IC 95%), p-valor = 0,013 (prueba T). Los BF nitrogenados no se unen a la GAPDH, el EHDP, no nitrogenado y con mayor analogía al  $\text{PP}_i$ , es el único con posible efecto sobre la GAPDH-H. La importancia farmacológica del EHDP sobre la GAPDH-H será corroborada por métodos bioquímicos.

## BP-052

### Endogenous C-terminal tagging by PCR SOEing in *Trypanosoma cruzi*.

León Alberto Bouvier<sup>1,2</sup>, Marisol Cantalupi<sup>2</sup>, Gonzalo Perrugoria<sup>2</sup>, [Gabriela Niemirowicz](#)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, San Matín, Argentina

High-throughput methods to establish the precise subcellular localization of endogenous proteins or to identify interaction partners within larger complexes are essential to understand different cellular processes. While specific antibodies are useful tools to solve these aspects, gene tagging approaches have become popular, allowing the analysis of diverse proteins in realistic timeframes. For *Trypanosoma cruzi*, gene tagging strategies rely on vectors that overexpress the protein of interest or alternatively on CRISPR/Cas9 based gene insertion methodologies. Both these options are time-consuming and technically challenging. Furthermore, occasionally pre-established cell

lines are an indispensable requirement. To overcome these limitations, we devised a simple PCR-based strategy to target different chromosomal *loci* for insertion of GFP and epitope tags. To test this approach, we constructed a series of template plasmids that carry the eGFP reporter and the neomycin or the blasticidin S resistance genes. These DNA segments were spliced by overlap extension PCR into a single molecule with homologous sections derived from the targeted gene, producing C-terminal fusions. The utility of the method was established by tagging genes encoding proteins of known localization such as the paraflagellar rod protein 2 (PFR2); Bilbo 1, a component of the flagellar pocket collar and TcMCP-1, a cytosolic metalloprotease. After four weeks of selection, this methodology proved to be highly efficient (> 95%) in all recombinant cell lines generated. Moreover, as determined by Western blot analysis, for TcMCP-1 we were able to endogenously replace both native alleles with tagged derivatives. In contrast to much more complex approaches the strategies presented herein only require elemental and broadly available molecular biology techniques and constitute a cost and time efficient alternative for the endogenous labelling of genes in *T. cruzi*.

## BP-054

### Metabolismo del hemo en *Trypanosoma cruzi*: estudio de la secuencia TcpHem1 y su relación con la producción de ALA.

[Vanesa Puente](#), Lubna Abou Assali, Maria del Carmen Martinez, Maria Elisa Lombardo

CIPYP, Buenos Aires, Argentina

*Trypanosoma cruzi* es un organismo hemodeficiente. La síntesis de hemo comienza con el ácido 5 aminolevúlico (ALA) y su formación es catalizada a partir de succinil-CoA y glicina, por una enzima llamada ALA Sintetasa (ALA-S). En cultivos de epimastigotes



detectamos la presencia de ALA tanto en el medio de cultivo (98%) como en el interior del parásito (2%). La búsqueda bioinformática de una secuencia capaz de codificar un ALA-S arrojó una única secuencia proteica candidata, anotada como una aminoacetona sintetasa putativa (AA-S putativa) a la cual llamamos TcHem1, la cual comparte con el ALA-S la presencia de la una secuencia para dirigirla a mitocondrias y un posible dominio HRM de interacción con el hemo. La AA-S sintetiza AA a partir de acetil-CoA y glicina por un mecanismo de acción similar al del ALA-S. Los estudios de alineamiento de secuencia y estructuras, con ambas sintetisas de distintas especies, indicaron que la secuencia de la proteína TcHem1 se relacionaba más con las AA-S. Sabiendo que el ALA-S es regulada por hemo, evaluamos el efecto de distintas concentraciones de hemina (0 - 15 mg/l) en el medio de cultivo sobre: los niveles de ALA extracelular (con 15 mg/l se disminuían 76,56 % respecto a no adicionar hemina) y la expresión del gen candidato a codificar TcHem1 (por PCR semicuantitativa observamos que la expresión también disminuye concomitantemente con el aumento de hemina en el medio). Sabiendo que las enzimas tipo ALA-S pueden tomar acetil-CoA ó succinil-CoA como sustratos, mientras las tipo AA-S no pueden utilizar succinil-CoA, se llevaron a cabo estudios de docking molecular para evaluar la especificidad de TcHem1. Los resultados obtenidos predicen afinidades similares para ambos como sustratos. En base a lo expuesto y la gran homología que existe entre el ALA-S y la AA-S, postulamos que la proteína TcHem1 sería una enzima tipo AA-S que modificó su especificidad y es capaz de aceptar succinil-CoA como sustrato, para producir ALA.

### BP-063

#### **Búsqueda de nuevos inhibidores del transportador de prolina TcAAP069 de *Trypanosoma cruzi* con actividad tripanocida.**

Melisa Sayé, Belén Jesús Maciel, Chanta Reigada, Facundo Galceran, Marcos Rengifo, Fabio DiGirolamo, Mariana R. Miranda, Claudio A. Pereira

IDIM, UBA-CONICET, CABA, Argentina

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, afecta alrededor de 7 millones de personas en América Latina. En *T. cruzi*, la prolina puede ser utilizada como fuente de carbono y energía alternativa a la glucosa, y es importante no sólo para el crecimiento sino también para la diferenciación entre estadios y la patogénesis. Hasta el momento el único transportador de prolina descrito en *T. cruzi* corresponde a la permeasa TcAAP069 y en trabajos anteriores hemos demostrado su relevancia en la supervivencia del parásito.

En este trabajo nos propusimos identificar nuevos inhibidores del transportador de prolina TcAAP069 con actividad tripanocida. Mediante una búsqueda bibliográfica obtuvimos compuestos que inhiben transportadores de prolina o de aminoácidos generales en otros organismos, como el eugenol, la benztropina y el azetidín-2-carboxilato. La benztropina fue el único compuesto capaz de inhibir la permeasa TcAAP069 de *T. cruzi*, por lo que sólo esta molécula fue usada como molde para realizar una búsqueda por similitud estructural. Se utilizó el software LiSiCA en dos bases de datos que contienen compuestos aprobados para su uso en humanos, entre otros, y de allí se obtuvieron dos moléculas, el mepenzolato (inhibidor parasimpático) y el clidinio (anticolinérgico), para ser evaluadas como inhibidores de la permeasa TcAAP069 y como agentes tripanocidas. El mepenzolato presentó acción tripanocida en epimastigotes de la cepa CL Brener en concentraciones elevadas, con una IC<sub>50</sub> de 760µM, muy por encima de la IC<sub>50</sub> del benznidazol, que fue de 28µM en las mismas condiciones. Sumado a esto, en tripomastigotes no demostró efecto y por eso fue descartada. Las pruebas con el clidinio comenzarán a realizarse pronto.

**BP-064****Detección y caracterización de la actividad fosfolipasa A1 en promastigotes de *Leishmania amazonensis*.**

Sebastián Andrés López<sup>1,2</sup>, Juan José Lauthier<sup>1,2</sup>, Paula Ruybal<sup>1,2</sup>, Guadalupe Gimenez<sup>1,2</sup>, María Laura Belaunzarán<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, BUENOS AIRES, Argentina. <sup>2</sup>CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPm), BUENOS AIRES, Argentina

Las Fosfolipasas A, enzimas que hidrolizan fosfolípidos, son reconocidos factores de virulencia en protozoarios patógenos incluidos los tripanosomátidos *Trypanosoma brucei* y *T. cruzi*.

En *Leishmania braziliensis*, previamente aislamos, caracterizamos, clonamos y expresamos la fosfolipasa A<sub>1</sub> (PLA<sub>1</sub>) (Bott y col. 2020), enzima que hidroliza fosfatidilcolina (PC), independiente de la presencia de cationes divalentes (Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>), con mayor actividad a pH 6,4. En *L. amazonensis*, se ha sugerido previamente que las fosfolipasas podrían contribuir en la modificación de la composición de fosfolípidos de los macrófagos infectados (Henriques y col. 2003).

En este trabajo analizamos en lisados de promastigotes de *L. amazonensis* (Lama) la presencia de actividad fosfolipasa mediante cromatografía en capa delgada (TLC) y determinación de fluorescencia en fase acuosa por hidrólisis de 1-palmitoyl-2-{6-[(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino]hexanoyl}-sn-glicero-3-phosphocholine (NBD-PC).

Los resultados indicaron la generación de lisofosfatidilcolina fluorescente (NBD-LPC), indicativo de actividad PLA de tipo A1, a las 2 hs de incubación, incrementándose la NBD-LPC en la incubación overnight. Como controles positivos se ensayó la actividad enzimática en

lisados de epimastigotes de *T. cruzi* y de promastigotes de *L. braziliensis*. Los ensayos de actividad se realizaron a 30°C y a 37°C, con resultados similares. En cuanto al pH óptimo de esta actividad PLA<sub>1</sub> en Lama, se utilizó un buffer universal 0.1 M Tris-HCl/0.1 M citrato de sodio, ajustado a diferentes valores de pH (3.0–8.0), alcanzándose la mayor actividad enzimática a un valor de pH óptimo ~5. Se analizó además la actividad en presencia de cationes divalentes, determinándose que dicha actividad PLA<sub>1</sub> se incrementó en presencia de 2mM de CaCl<sub>2</sub> o MgCl<sub>2</sub>.

En conclusión, *L. amazonensis* posee actividad PLA<sub>1</sub> sobre PC, con dependencia de los cationes Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> y pH óptimo de actividad de ~5. Financiado UBA/CONICET/FONCYT.

**BP-068****Estudio de los posibles roles de las cadenas de SUMO en el estadio sanguíneo de *Trypanosoma brucei*.**

Lucia Ayelen Di Marzio, Paula Iribarren, Melina Serassio, Vanina Alvarez

IIBIO, Buenos Aires, Argentina

La SUMOilación es una modificación post traduccional reversible que involucra la unión covalente de la proteína SUMO a diversos sustratos. Estos sustratos pueden ser modificados por una única molécula de SUMO o por cadenas poliméricas de SUMO. Éstas últimas juegan un rol en la replicación, en la degradación de proteínas blanco de SUMO por el proteosoma, en las respuestas frente a estrés y durante la mitosis y la meiosis, entre otros.

En particular, en este trabajo hemos estudiado el rol de las cadenas de SUMO en el estadio sanguíneo de *T. brucei*. La diferenciación de este parásito desde un estadio sanguíneo replicativo (*slender*) hacia un estadio no replicativo (*stumpy*) le permite controlar su crecimiento y así, asegurar su sobrevivencia y transmisión. Sin embargo, muchas cepas de laboratorio han perdido su capacidad de diferenciación a *stumpy*

(cepas monomórficas), por lo que crecen descontroladamente matando al hospedador a los pocos días post infección. Sorpresivamente, al infectar ratones utilizando una cepa monomórfica incapaz de formar cadenas de SUMO, observamos parasitemias oscilantes características de infecciones con parásitos pleomórficos y un aumento significativo en la sobrevivencia del hospedador. Por otro lado, al utilizar una cepa pleomórfica incapaz de formar cadenas de SUMO, observamos una reducción en las parasitemias de los ratones infectados. Estos experimentos sugirieron que las cadenas de SUMO podrían estar implicadas directamente en la diferenciación del estadio sanguíneo, o regulando la misma de manera indirecta, ya que condiciones de estrés pueden disparar cambios similares llevando a la formación de células stumpy-like. En conclusión, es evidente que las cadenas de SUMO juegan un rol clave durante la infección por *T. brucei*, sin embargo, todavía es necesario seguir estudiando el mecanismo por el cual ejercen su función.

## BP-069

### Rol de la SUMOilación en la variación antigénica en *Trypanosoma brucei*.

Melina Serassio, Paula Iribarren, Vanina Alvarez

IIBIO, Buenos Aires, Argentina

La SUMOilación de proteínas es una modificación post traduccional que involucra la unión covalente de una proteína con homología estructural a ubiquitina llamada SUMO a residuos de lisina de distintas proteínas blanco. En nuestro modelo de estudio, *Trypanosoma brucei*, se ha demostrado que la SUMOilación de proteínas estaría implicada en procesos clave para la vida del parásito como son la diferenciación y la variación antigénica. Para el estudio de este último mecanismo, desarrollamos una línea de parásitos sanguíneos pleomórficos que expresan de manera inducible un sistema de ARNi dirigido hacia la

glicoproteína variable de superficie (VSG) expresada por los parásitos. Observamos que, tal como se ha descrito anteriormente para parásitos monomórficos, la interferencia de la expresión de VSG da como resultado el arresto del ciclo celular, lo que conduce a la muerte de los parásitos y permite seleccionar aquellos que hayan cambiado la expresión de su VSG hacia una nueva variante. Esta línea celular nos permitió analizar el efecto del tratamiento con anticuerpos dirigidos hacia la VSG expresada sobre la frecuencia de variación antigénica. Observamos que, luego del tratamiento con anticuerpos, la frecuencia de variación antigénica, calculada mediante un test de fluctuación (método  $P_0$ ), se encontraba incrementada. Durante el estadio sanguíneo de *T. brucei* las proteínas SUMOiladas se encuentran concentradas en un foco extranucleolar llamado HSF el cual regula positivamente la expresión de VSG. Dicho HSF colocaliza con el complejo encargado de la transcripción de la VSG activa, llamado ESB, el cual se encuentra enriquecido en ARN pol I. Para estudiar la dinámica de SUMOilación durante el switching transfectamos la línea que expresa el ARNi dirigido hacia la VSG con un plásmido que posee una variante de la ARN pol I marcada. De esta manera podremos estudiar que ocurre con el HSF y el ESB durante la variación antigénica.

## BP-070

### Caracterización de una enzima HDAC en *Tritrichomonas foetus*.

Juan Martin Castellanos<sup>1</sup>, María Belén Rivero<sup>2,3</sup>, Melchor Emilio Luque<sup>2,1,3</sup>, Maximiliano David Maldonado<sup>1</sup>, Lucia Alejandra Lopez<sup>2,3</sup>, Maria Eugenia Abdala<sup>2,1,3</sup>, Fernando David Rivero<sup>2,1,3</sup>, Pedro Gabriel Carranza<sup>2,1,3</sup>

<sup>1</sup>FaYA-UNSE, Santiago del Estero, Argentina. <sup>2</sup>LaBIM-IMSaTeD (CONICET-UNSE), Santiago del Estero, Argentina.

<sup>3</sup>FCM-UNSE, Santiago del Estero, Argentina

*Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*) es el protozoario causante de la Tritrichomonosis Bovina (TB), enfermedad de transmisión sexual

que afecta al ganado bovino, con importantes pérdidas económicas en países como el nuestro, dónde la misma es endémica. Los mecanismos por el cual este protozooario regula la expresión de sus genes han sido poco estudiados y, por lo tanto, poco se conoce acerca de la biología molecular de este parásito. Los mecanismos epigenéticos que regulan la expresión de genes se han descrito asociados a ciertos factores de virulencia en diferentes especies, inclusive en algunos protozoarios. Sin embargo, no se sabe la existencia y/o la importancia de estos en *T. foetus*. En experimentos previos realizados por nuestro grupo de trabajo, observamos que la utilización de inhibidores de enzimas deacetilasas (HDACs) tienen un poderoso efecto a la hora de inhibir el crecimiento de este parásito, en el rango de la concentración nM. Las HDACs suelen estar íntimamente asociadas a factores epigenéticos, especialmente deacetilando histonas, regulando la estructura de la cromatina. El objetivo de este trabajo fue caracterizar, y localizar una enzima HDAC de *T. foetus*, del grupo de las que no requieren NAD<sup>+</sup> como cofactor (non-NAD<sup>+</sup> dependent deacetylases). Después de una búsqueda en el genoma del parásito, se eligió y amplificó el gen denominado TFRO 19068. La expresión del mismo se llevó a cabo usando un vector de expresión con el que se transfectó un aislamiento de *T. foetus* (Tf3). Los transfectantes para el gen se seleccionaron con G418 y mediante inmunofluorescencia se estudió su localización celular y por western blot su peso molecular. Al mismo tiempo se determinó los efectos de los inhibidores para HDAC en estos trofozoítos. Estos resultados son los primeros que caracterizan una HDAC en este protozooario parásito.

## BP-074

### Análisis evolutivo de las isoformas de la AMPK $\alpha$ presente en *Trypanosoma cruzi*.

Alejo Facundo Prego<sup>1</sup>, Francisco Pisciotano<sup>2</sup>, Tamara Sternlieb<sup>1</sup>, Cecilia Mariel Martinez<sup>1</sup>, Guillermo Daniel Alonso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INGEBI, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>IByME, Buenos Aires, Argentina

La quinasa de proteínas dependiente de AMP (AMPK) es una enzima clave en el sensado energético que cuenta con una subunidad catalítica (AMPK $\alpha$ ) y dos subunidades regulatorias (AMPK $\beta$  y AMPK $\gamma$ ), y según la especie puede hallarse más de una isoforma. *Trypanosoma cruzi*, parásito unicelular con un ciclo de vida complejo, conserva dicho complejo presentando dos isoformas de la AMPK $\alpha$  (TcAMPK $\alpha$ 1 y TcAMPK $\alpha$ 2) y una única isoforma para cada una de las otras dos subunidades. La mayoría de estudios filogenéticos que involucran a estos organismos se suelen incluir otros eucariotas evolutivamente distantes que generan fenómenos que le restan fiabilidad a las relaciones establecidas debido a las grandes distancias filogenéticas. En el presente trabajo realizamos estudios evolutivos comparativos para cada una de las AMPK $\alpha$  incluyendo organismos pertenecientes al grupo de los Trityps. A partir de estos primeros análisis observamos una alta conservación de la secuencia de cada isoforma dentro de cada especie. También se observó que para las AMPK $\alpha$ 1 existe una mayor conservación dentro del género *Trypanosoma*, mientras que con la AMPK $\alpha$ 2 se observó mayor semejanza entre las secuencias de *T. cruzi* con las Leishmanias. En un análisis más amplio, incluyendo un número mayor de especies pertenecientes al grupo Excavata, determinamos que existe una mayor similitud entre la TcAMPK $\alpha$ 2 y las AMPK $\alpha$  de otros organismos de este grupo, incluyendo algunos que presentan una única subunidad  $\alpha$ , lo que indicaría que la AMPK $\alpha$ 2 es la subunidad

canónica. Finalmente, mediante estudios de evolución molecular implementados para detectar eventos de adaptación episódica luego de la divergencia de las isoformas determinamos que ambas proteínas estuvieron sujetas a un fuerte proceso de selección positiva. Estos resultados indicarían que existió una subfuncionalización de ambas isoformas luego de la divergencia de AMPK $\alpha$ 1 y AMPK $\alpha$ 2.

## BP-076

### CRISPR/Cas9 gene editing of *Trypanosoma cruzi* to study the functionality of the TcTASV multigene family.

Yamil Ezequiel Masip<sup>1,2</sup>, Janaina de Freitas Nascimento<sup>3</sup>, Agustina Chidichimo<sup>1,2</sup>, Maximiliano Cosenza<sup>1,2</sup>, Ariel Silber<sup>3</sup>, Valeria Tekiel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Martín, Argentina. <sup>2</sup>Escuela de Bio y Nanotecnologías (EBYN), Universidad Nacional de San Martín, San Martín, Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Parasitología, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

TcTASV is a multigenic family unique to *Trypanosoma cruzi* and present in all the strains analyzed so far. Its main subfamily, TcTASV-C, is located at the trypomastigote membrane and secreted both free and into extracellular vesicles, being expressed up to 100 times more in blood circulating trypomastigotes than in those maintained in vitro (Caeiro et al, 2018). TcTASV-C may have a role in the establishment of *T. cruzi* infection, although its exact function is still unknown. Here, we propose the use of the CRISPR/Cas9 technique to generate knock-out parasites for TcTASV-C (6 annotated genes in CL-Brener strain, TcVI). CRISPR/Cas9 requires the Cas9 nuclease, which generates a double-stranded cut in the region of interest guided by single guide RNAs (sgRNAs), being able to add a donor DNA for homologous recombination. We

designed two sgRNAs -common for every TcTASV-C gene- and donor DNAs to replace TcTASV-C with blasticidin and/or puromycin resistance cassettes. This material was used to transfect CL-Brener epimastigotes constitutively expressing the Cas9 endonuclease and the T7 polymerase (Costa et al, 2018). We characterized clonal populations of blasticidin-resistant hemi knock-out parasites, analyzing genomic DNA by PCR with specific primers and sequencing. Thus, we determined that they have at least one wild-type gene copy (amplification with internal primers in TcTASV-C genes) and at least one interrupted copy (forward primer into TcTASV-C 5'UTR region and reverse primer on antibiotic resistance). No puromycin-resistant parasites were yet obtained. Blasticidin-resistant epimastigotes do not differ in morphology or growth rate from control. We have then obtained metacyclic trypomastigotes which infect Vero cells, differentiate into amastigotes and exit cells as trypomastigotes. Our next goal is to determine TcTASV-C mRNA (rt-qPCR) and protein levels in hemi knock-out trypomastigotes, proceeding then to the study of their in vivo and in vitro infective capacity.

## BP-079

### Identificación de motivos de secuencia involucrados en la regulación traduccional durante la transición proliferativa G1/S de *Trypanosoma cruzi*.

Santiago Chávez<sup>1,2,3</sup>, Beatriz Garat<sup>3</sup>, José R. Sotelo-Silveira<sup>2,4</sup>, María Ana Duhagon<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Udelar., Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Udelar., Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Udelar, Montevideo, Uruguay

*Trypanosoma cruzi* es el agente etiológico de la tripanosomiasis americana, una parasitosis de transmisión vectorial que se distribuye en regiones tropicales y sub-tropicales de Latinoamérica. Este protozooario presenta un complejo ciclo de vida en sus hospederos que alterna entre diferentes estadios. Se conoce poco aún sobre los mecanismos que gobiernan la proliferación celular en *T. cruzi*, pero la evidencia sugiere que hay divergencia con los mecanismos conocidos para las células del hospedero. Como antecedente, nuestro grupo determinó el transcriptoma del ciclo celular de *T. cruzi* (Chavez *et al*, 2017), y también el traductoma y el proteoma para los estadios implicados en la transición proliferativa G1/S (Chavez *et al*, 2021). Observamos una escasa modulación de la abundancia de los ARNm (99 genes FC >1.5) en la transición G1/S. Sin embargo, observamos 1784 genes diferencialmente traducidos (FC >2, FDR <0.05) y 653 proteínas con niveles alterados (FC >1.5, FDR < 0.05), lo que apoya la importancia de la regulación postranscripcional incluso en procesos rápidos. Buscando identificar regulones traduccionales, analizamos el enriquecimiento de motivos de secuencias en las UTRs de los genes diferenciales en ribo-seq utilizando la suite MEME. Identificamos un motivo de secuencia de 7 nucleótidos (TAGAwkC) enriquecido en las regiones 3'-UTR de los 861 genes más eficientemente traducidos en fase S. Si bien la cepa utilizada para los experimentos de RNA-seq y proteómica fue un aislado de TcI seleccionada por su eficiente sincronización con HU (Potenza *et al*, 2012), el análisis bioinformático se realizó en el genoma de referencia CL-Brener, haplotipo Esmeraldo (TcII), dado que no se ha secuenciado el genoma de esta cepa. Aquí analizamos la presencia/conservación del motivo TAGAwkC en cepas de *T. cruzi* de la DTU TcI con su genoma secuenciado (Dm28, SylvioX10). También analizamos la presencia de motivos equivalentes en los genes ortólogos en *T. brucei*.

## BP-080

### Deleción génica de la histona H2A.X de *Toxoplasma gondii* mediante CRISPR-Cas9.

Constanza Cristaldi, Isaac Mercado, Tomás Blanzaco, Agustina Ganuza, Sergio Oscar Angel, Laura Vanagas

INTECH, Chascomús, Argentina

*Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular obligado que pertenece al phylum Apicomplexa, causante de la toxoplasmosis en humanos y animales de importancia ganadera, entre otros. Los tratamientos disponibles provocan muchos efectos adversos en los pacientes infectados, por lo que hay una intensa búsqueda de nuevas drogas que afecten de manera específica al parásito y no así a la célula hospedadora. Una vía muy conservada en *T.gondii*, es la vía de reparación del daño de ADN por rotura de doble cadena (DSB por sus siglas en inglés). Sin embargo, hay componentes importantes que están ausentes, sugiriendo que podría existir una divergencia con la vía de reparación de DSB de mamíferos, posiblemente involucrando componentes específicos del parásito. Una proteína muy importante de esta vía de reparación es la histona H2A.X, que se fosforila en un residuo de serina (S132) marcando focos de DSB. Al fosforilarse, permite el reclutamiento de diferentes proteínas requeridas para la reparación del daño. Con el objetivo de caracterizar el rol de esta histona en *T.gondii*, y su importancia en el mecanismo de reparación mencionado generamos líneas de *T.gondii* *knockout* (KO) empleando la técnica CRISPR-Cas9 en parásitos RHΔHXGPRT. Se diseñaron las guías, se incorporaron al plásmido, que además permite la expresión de la Cas9, y por otra parte se construyó un amplicón que contiene un cassette de selección de DHFR rodeado por 40 pb del 5'UTR y 3'UTR del gen de la histona. Los taquizoítos RHΔHXGPRT se co-transfectaron con el plásmido y amplicón. La incorporación del amplicón por doble recombinación homóloga,

generando el KO de H2A.X, fue analizado por PCR en clones de taquizoítos seleccionados con la droga pirimetamina. Actualmente están en proceso de evaluación fenotípica. En conclusión, se generó una línea estable de taquizoítos de tipo I, RH, KO para la histona H2A.X que serán de utilidad para dilucidar el rol de la misma en el proceso de reparación del daño al ADN en *T.gondii*.

## BP-083

### Identificación de un germacránolido con actividad anti-*T. cruzi* de *Stevia satureiifolia* var. *satireiifolia*.

Jimena Borgo<sup>1,2,3</sup>, Elso Orlando<sup>2,1</sup>, Jessica Gómez<sup>4</sup>, Mauro Coll<sup>4</sup>, Natacha Cerny<sup>5</sup>, Rocío Cenizo<sup>5</sup>, Andrés Sánchez Alberti<sup>5</sup>, Patricia Barrera<sup>4</sup>, Florencia Martini<sup>1,3</sup>, Augusto Ernesto Bivona<sup>6</sup>, Valeria Sülsen<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>IQUIMEFA (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Cátedra de Farmacognosia (FFYB-UBA), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Cátedra de Química Medicinal (FFYB-UBA), Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>IHEM (CONICET), Mendoza, Argentina. <sup>5</sup>IMPAM (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>6</sup>IDEHU (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* es una parasitosis endémica predominantemente en América Latina. Afecta entre 6 y 7 millones de personas en el mundo, y es responsable de 10000 muertes por año. Los únicos fármacos disponibles para su tratamiento son Benznidazol y Nifurtimox, que están asociados a una alta frecuencia de aparición de eventos adversos y una eficacia variable. En el marco de nuestra línea de investigación, enfocada en el estudio de productos naturales con actividad antiparasitaria aislados de especies de plantas del género *Stevia*, hemos reportado la actividad anti-*T. cruzi* del extracto y algunos polifenoles aislados de la especie *S. satureiifolia* var. *satireiifolia*. En virtud de estos resultados, se procedió a la búsqueda de otros compuestos bioactivos de esta especie. Se identificó una lactona sesquiterpénica de tipo germacránolido

a la que se denominó SSA. La actividad in vitro de SSA contra epimastigotes y amastigotes de *T. cruzi*, condujo a valores de IC50 de 4.16  $\mu$ M, y 5.21  $\mu$ M, respectivamente. A su vez, la citotoxicidad ensayada en células Vero mediante el ensayo de MTT, resultó en una CC50 de 29.44  $\mu$ M. Con el fin de estudiar los cambios ultraestructurales producidos por SSA en el parásito, se incubaron epimastigotes con distintas concentraciones de SSA por 72 h. Los cambios fueron evaluados por microscopía electrónica de transmisión y comparados con un control incubado en presencia de vehículo. Los epimastigotes tratados con 12  $\mu$ M de SAA mostraron desprendimientos de la membrana plasmática 48 h post incubación, mientras que a 18  $\mu$ M se observaron desprendimientos de membrana junto con formación de vacuolas, que asemejan a autofagosomas. A las 72 h de tratamiento, se observaron fenotipos similares. Estos resultados indicarían que SSA representa un compuesto fitoquímico de interés y promisorio para el futuro desarrollo de agentes anti-*T. cruzi*.

## BP-084

### Dinámica de la sobreoxidación de peroxirredoxinas en el parásito *Trypanosoma cruzi*.

Maria Dolores Piñeyro<sup>1,2</sup>, María Laura Chiribao<sup>1,2</sup>, Carlos Robello<sup>1,2</sup>, Adriana Parodi-Talice<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno. Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay., Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Sección Genética, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay

Las triparredoxina peroxidasas citosólica (c-TXNPx) y mitocondrial (m-TXNPx) de *T. cruzi* son peroxirredoxinas (Prxs) de 2-Cys muy eficientes. Previamente, demostramos que c-TXNPx se sobre-oxida in vitro, forma oligómeros de alta masa molecular y presenta actividad chaperona, siendo ésta una característica compartida con

otras Prxs. Observamos además que en el contexto de la infección de macrófagos una proporción de las Prx se sobreoxida. Ya que la sobreoxidación impide la actividad peroxidasa, pero no la actividad chaperona de las Prx, nuestro objetivo en este trabajo fue analizar la dinámica de sobreoxidación de las Prxs de *T. cruzi* en distintos estadios del parásito, bajo condiciones de estrés y durante la infección. Evaluamos la sobreoxidación a distintos tiempos, en formas epimastigotas y en tripomastigotas y a distintas concentraciones de oxidantes. Asimismo, evaluamos la capacidad de infección de tripomastigotas sometidos a oxidantes, en parásitos salvajes y sobre-expresantes de las Prxs citosólica y mitocondrial. Los datos obtenidos con extractos de parásitos sometidos a tratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mostraron sobreoxidación en las Prxs, incluso 24 horas después del tratamiento, a diferencia de lo que le sucede con las Prxs de mamíferos que a las 24 hrs ya no se observa señal de sobreoxidación debido a la presencia de sulfiredoxinas que regeneran el ácido sulfínico. Estudiamos cambios en la localización de las Prxs en parásitos sometidos a estrés. Observamos sobreoxidación de las Prxs en los tripomastigotas sometidos a estrés oxidativo. Asimismo, el tratamiento de tripomastigotas con oxidantes generó menores tasas de infección. Estos resultados nos permiten avanzar en la comprensión del rol que cumplen estas peroxirredoxinas tanto como peroxidasa y como chaperonas en el ciclo de vida del parásito y en el proceso de la infección.

## BP-086

### Actividad anti-*Trypanosoma* de *Helenium radiatum* (Asteraceae).

Karen Vargas Gómez<sup>1</sup>, Rachel Nápoles Rodríguez<sup>2</sup>, Juan M. Viecenz<sup>3</sup>, Jimena Borgo<sup>1,2</sup>, Elso Orlando<sup>1</sup>, María Clavin<sup>1</sup>, Esteban Bontempi<sup>3</sup>, Valeria Sülsen<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacognosia (FFYB-UBA), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>IQUIMEFA (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>INP-ANLIS, Buenos Aires, Argentina

La enfermedad del sueño o tripanosomiasis africana es producida por *Trypanosoma brucei*. Esta parasitosis se encuentra presente en África y más del 95% de los casos los causa el *Trypanosoma brucei gambiense*. Durante la fase I de la enfermedad, el parásito está solo en la sangre y se presenta fiebre y debilidad. La fase II empieza cuando el parásito pasa al sistema nervioso central y el paciente comienza con síntomas neurológicos o psiquiátricos. Se busca que las nuevas moléculas puedan ser efectivas para el tratamiento de ambos estadios de la enfermedad.

Los productos naturales cumplen un papel importante en los procesos de búsqueda y descubrimiento de nuevos fármacos. Entre las drogas antiparasitarias de origen natural se destacan el alcaloide quinina y la lactona sesquiterpénica artemisinina, utilizadas para el tratamiento de la malaria. En este sentido, el presente trabajo se focalizó en el estudio de la especie *Helenium radiatum* (Asteraceae) en la búsqueda de drogas más seguras y eficaces.

Las partes aéreas de *H. radiatum* se extrajeron por maceración con diclorometano y luego con metanol. Los extractos obtenidos se evaluaron in vitro frente a tripomastigotes de *T. brucei brucei*. Los mismos resultaron activos con porcentajes de inhibición de 96.9 y 97.3, respectivamente a 100 µg/ml. Los extractos obtenidos se analizaron por cromatografía en capa delgada. En el extracto diclorometánico se evidenció por medio de análisis cromatográfico, la presencia de compuestos de naturaleza terpénica y fenólica. Se encaró el fraccionamiento del extracto diclorometánico por cromatografía en columna con el fin de aislar los compuestos responsables de la actividad antiparasitaria observada. Se obtuvieron 20 fracciones (F1-F20). Estas fracciones están siendo evaluadas frente a *T. brucei*. En función de los resultados de actividad, se encarará la purificación de la fracción más activa con el fin de aislar los compuestos responsables de la actividad observada.



**BP-087****Análisis de la expresión y función de la HSP27 en el ciclo de vida de *Plasmodium berghei*.**

Karina Caruso<sup>1</sup>, SOFIA PAULA CAVAGNARO<sup>2</sup>, Virginia Balouz<sup>2</sup>, CARLOS ANDRES BUSCAGLIA<sup>2</sup>, GEORGINA NURI MONTAGNA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNIFESP, SAN PABLO, Brazil. <sup>2</sup>IIBIO-UNSAM, SAN MARTIN, Argentina

La malaria es causada por el parásito *Plasmodium* que alterna su ciclo vital entre el mosquito *Anopheles* y el hospedador mamífero. La transmisión vectorial comienza cuando la hembra del mosquito ingiere los gametocitos a partir de la sangre de un hospedador infectado. Dentro del mosquito las gametas forman un cigoto, el cual se convierte en un ooquineto polarizado móvil que invade las células epiteliales del intestino del vector. Luego se diferencia formando ooquistes, dentro de los cuales se desarrollan numerosos esporozoítos, las formas infecciosas del parásito. En diversos sistemas celulares se ha reportado que las pequeñas chaperonas de choque térmico (sHSP) regulan la dinámica del citoesqueleto y por lo tanto están asociadas a procesos de migración y diferenciación celular. Previamente, hemos demostrado que la pequeña chaperona HSP20 tiene un rol crítico en el desplazamiento de los esporozoítos de *Plasmodium* y en la transmisión de la malaria. Recientemente, hemos identificado una proteína de 27 kDA que comparte el dominio cristalino alfa, característico de la familia de las sHSP. Utilizando parásitos que expresan la HSP27 fusionada a m-Cherry observamos que esta chaperona se expresa en los estadios sanguíneos asexuales de *Plasmodium berghei*, particularmente en los esquizontes. Ensayos *in vitro*, que reproducen el ciclo del parásito en el vector, muestran que la HSP27 también se expresa en cigotos y ooquistes. Sin embargo, los ooquistes que sobre-expresan esta proteína presentan una alteración en su morfología, sugiriendo que esta

chaperona podría ser importante durante el proceso de diferenciación de este estadio. Posteriormente, intentamos generar parásitos transgénicos carentes del gen *Pbhsp27*, pero no conseguimos obtener una población clonal. Esto último, sumado a la evidencia de que HSP27 se expresa abundantemente en esquizontes, indicaría que esta proteína podría ser esencial durante la etapa sanguínea del parásito.

**BP-090****Chagas disease. Study of the Benznidazole-aldoketo reductase interaction from a computational perspective.**

Pablo Trujillo<sup>1</sup>, Patricia Garavaglia<sup>2</sup>, Sebastian Aduviri<sup>1</sup>, Guadalupe Alvarez<sup>3</sup>, Eliana K Ascituo<sup>3,4</sup>, Joaquin Canatta<sup>5</sup>, Gabriela Garcia<sup>2</sup>, Monica Pickholz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IFIBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>National Institute of Parasitology “Dr. Mario Fátala Chaben”- ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>ICIFIT, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>5</sup>IIB-INTECH, Buenos Aires, Argentina

Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, is considered a neglected tropical disease and affects more than 6 million people in the Americas. The current treatment of *T. cruzi* infection is based on nitro-heterocyclic compounds. These drugs are effective in the acute phase but present low efficacy in the chronic phase of the infection. It is known that nitro-heterocyclic compounds need to be reduced by parasite reductases to exert their trypanocidal effects; however, the mechanism of action is not clearly understood. Recent research suggests that the *T. cruzi* aldoketo reductase (TcAKR) has affinity for Benznidazole (Bz), the drug used for Chagas treatment, and is involved in the resistance to this drug<sup>1</sup>. Protein–ligand interactions are fundamental to almost all processes studied for live sciences; chemical interactions and biological recognition are steep fundamentally in discovering new drugs. Success depends on the interaction of the ligand with

highly specific sites in the protein. In this work we explored the interaction of TcAKR with Bz, using computer techniques. The goal was to identify possible sites of high affinity for the drug within the protein. In order to boost the protein-ligand match, we performed Molecular Dynamics (MD) simulations with different Bz-TcAKR ratios. This sampling allowed us to identify regions in the protein with affinity for the drug. Using this tool we were able to study dynamical properties of the protein with and without the drug. Besides, main specific interaction between the drug and the protein were identified, like hydrogen bond and salt bridges. Calculations allowed us to identify possible site of binding by comparison their free energy (MMPGSA). These studies provide new insights about TcAKR-Bz interaction that could favor the development of new strategies to attack the parasite.

## BP-095

### TCBDF5, UN FACTOR BROMODOMIO ESENCIAL DE *Trypanosoma cruzi*.

Lucila Attala<sup>1</sup>, Elvio Rodríguez Araya<sup>1</sup>, Alejandro Pezza<sup>1</sup>, Roberto Docampo<sup>2</sup>, Esteban Serra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario. CONICET-UNR, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>University of Georgia, Athens, USA

Entre las ocho proteínas bromodominios presentes en el genoma de *T. cruzi*, TcBDF5 es la única que tiene dos bromodominios, además de una copia del dominio MRG, el cual está definido como un módulo de interacción proteína-proteína. Esta proteína se considera esencial para el desarrollo de *Leishmania mexicana*; y tanto en este organismo como en *Trypanosoma brucei*, BDF5 se ha encontrado localizado en amplias áreas del genoma relacionadas con la iniciación de la transcripción asociada con muchas otras proteínas coligadas con la transcripción, así como la replicación y reparación del ADN. Usando la técnica CRISPR/Cas9, intentamos eliminar el gen *tcbdf5*.

Después de tres eventos de transformación y selección independientes, solo pudimos obtener parásitos hemiciotos, con una copia funcional del gen y la otra eliminada. Estos resultados sugieren fuertemente que TcBDF5 es esencial para *T. cruzi*. Los epimastigotes obtenidos (Dm28c::tcbdf5+/-) mostraron un aumento en el tiempo de duplicación, en comparación con la cepa de tipo silvestre. Para entender mejor su función, diferentes versiones de la proteína fueron sobre expresadas en una forma inducible por el plásmido pTcINDEX. La expresión de la proteína de tipo salvaje inhibió drásticamente el crecimiento de los parásitos, al igual que la expresión de una versión mutante en un residuo esencial para la función del dominio MRG (R623A). En contraste, los mutantes en la asparagina considerada esencial para la función de bromodominio (N91A, N300A) afectaron ligeramente el crecimiento. Estos resultados sugieren que tener el dominio MRG podría ser más esencial para la función del TcBDF5 que el propio bromodominio. Curiosamente, las proteínas con la mutación N91A mostraron niveles más bajos de expresión, lo que sugiere que podría estar desestabilizando la estructura del dominio y facilitando su degradación.

## BP-097

### Búsqueda de nuevos antiparasitarios mediante la inhibición de una esteroles desaturasa.

Gervasio Puca, Leonardo Alonso, Alejandro Nusblat

Instituto de Nanobiotecnología, Buenos Aires, Argentina

La enzima C7 esteroles desaturasa es una monooxigenasa inicialmente descrita en insectos y nemátodos, imprescindible en la etapa embrionaria y en el desarrollo larvario. Se han hallado ortólogos en algunos protistas flagelados del superfilo Discoba (entre ellos *Naegleria* y *Trypanosoma theileri*), y en otros animales, pero no en mamíferos. Es por ello que

podría utilizarse como blanco terapéutico para el desarrollo de nuevos antiparasitarios. No obstante, la estructura tridimensional y el mecanismo de acción de la enzima son desconocidos, por lo que es necesario su caracterización para el desarrollo racional de inhibidores.

Los objetivos de este trabajo fueron sobreexpresar y purificar la C7 esteroles desaturasa para la posterior determinación de sus características conformacionales, y evaluar posibles inhibidores de la enzima. Para ello, se utilizó al organismo modelo ciliado *Tetrahymena thermophila*, que posee un ortólogo de la enzima.

Para la expresión de la enzima, se generaron constructos génicos para la expresión en *E. coli*, fusionado a la Maltose Binding Protein. Como resultado, se pudo expresar satisfactoriamente la enzima recombinante, y se la logró purificar por cromatografía de afinidad. Por otra parte, se evaluaron diez compuestos con posible actividad inhibitoria de la enzima, ninguno de los cuales mostró una diferencia significativa en la actividad C7 esteroles desaturasa con respecto al control.

En conclusión, en este trabajo se sentaron las bases para el desarrollo de nuevos insecticidas que tengan como blanco la inhibición de la C7 esteroles desaturasa. Se generó y se optimizó un sistema *in vivo* para la determinación de la actividad e inhibición de la enzima y se obtuvo un sistema de producción de la proteína recombinante. Esto permitirá seguir ensayando posibles inhibidores como también determinar la conformación de la proteína, y predecir la estructura del complejo enzima-sustrato para así identificar posibles inhibidores de forma racional.

## BP-099

### ***Dictyostelium discoideum* como nuevo modelo de estudio para la Ataxia de Friedreich.**

Gentili, Hernan G<sup>1</sup>; Olmos, Justo<sup>1</sup>; Pignataro, María Florencia<sup>1</sup>, Paván, Florencia<sup>2</sup>; Ibáñez, Itatí<sup>2</sup>; Santos, Javier<sup>1</sup>; Velázquez Duarte, Francisco<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Translacional (iB3) FBMC-FCEN-UBA. <sup>2</sup>Instituto de Química Física de los Materiales, Medio Ambiente y Energía

La Ataxia de Friedreich es una enfermedad neurodegenerativa, poco frecuente causada por mutaciones en el gen *fxn*, que codifica para la proteína mitocondrial Frataxina. Frataxina participa del ensamblaje de los centros Fe-S como parte del supercomplejo mitocondrial cisteína-desulfurasa. En este trabajo planteamos modelizar esta enfermedad usando el protista ameboide *D. discoideum* (Amoebozoa) y desarrollar herramientas que nos permitan entender mejor su patofisiología así como el desarrollo y evaluación de nuevas estrategias terapéuticas. Hemos logrado editar el locus endógeno de frataxina en *D. discoideum* (CRISPR-Cas) y aislar diferentes clones. Hemos seleccionados 2 clones para una caracterización más profunda: CC8 cuya mutación, stop-codon prematuro, produce una proteína que carece de residuos esenciales para su función y que representa un *knockout* funcional, y CCJ mutante con una pequeña inserción de 2 aminoácidos. Una caracterización preliminar muestra que ambos clones, al igual que las células de pacientes y otros modelos de la enfermedad, presentan deficiencias en actividades mitocondriales (aconitasa y succinato deshidrogenasa), y mayor susceptibilidad al estrés oxidativo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ambos clones se ven afectados en el desarrollo por falta de nutrientes de la fase de desarrollo multicelular en esta ameba. CC8 además presenta un tiempo de duplicación mayor que el silvestre. Por último experimentos de complementación muestran que la variante de frataxina G122V que mimetiza una mutación de pacientes es capaz de revertir totalmente algunos de los fenotipos (crecimiento) mientras que solo lo hace parcialmente para otros (actividad enzimática), lo que abre una puerta para el estudio en profundidad de la patofisiología de las distintas variantes así como para el desarrollo de estrategias terapéuticas personalizadas.

## Diagnóstico y Tratamiento

### DT-007

#### Síntesis, caracterización y evaluación en *Trypanosoma cruzi* de liposomas lipídicos de nuevos fármacos tripanocidas.

Chantal Reigada<sup>1</sup>, Fabio Digirolamo<sup>1</sup>, Facundo Galceran<sup>1</sup>, Melisa Sayé<sup>1</sup>, Carolina Carrillo<sup>2</sup>, Pablo Torres<sup>2</sup>, Agustina Cammarata<sup>3</sup>, Romina J Glisoni<sup>3</sup>, Guillermo Labadie<sup>4</sup>, Mariana R Miranda<sup>1</sup>, Claudio A Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari (IDIM, CONICET-UBA), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología “Dr. Cesar Milstein” (ICT-MILSTEIN-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC, CONICET-FFyB, UBA), Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Instituto de Química Rosario (IQUIR-CONICET), Santa Fe, Argentina

Con la necesidad de desarrollar nuevas alternativas terapéuticas para mejorar el tratamiento de la enfermedad de Chagas recientemente identificamos diferentes fármacos, aprobados para su uso en humanos, con actividad contra *Trypanosoma cruzi*, entre ellos, el antihistamínico loratadina (LTD) y el retinoide isotretinoína (ISO), utilizado para el tratamiento del acné. Este trabajo tiene como objetivo obtener formulaciones lipídicas de ISO y LTD a fin de optimizar la llegada de los fármacos al blanco terapéutico, aumentando la actividad tripanocida y disminuyendo las dosis efectivas respecto a los compuestos usados de forma libre. Para ello, preparamos liposomas de fosfatidilcolina y colesterol en etanol conteniendo ISO o LTD, recubiertos con quitosano, un polímero biocompatible, biodegradable y no tóxico. La caracterización fisicoquímica de los liposomas de ISO, LTD y vacíos indicó un tamaño de partícula de aproximadamente 400 nm, con un índice de polidispersión entre 0,1 y 0,2 indicando que la muestra es monodispersa, y un potencial zeta cercano a +2 mV. También se determinó la eficiencia de encapsulación de los fármacos en

los liposomas por HPLC, obteniéndose valores cercanos a 50%. Finalmente, evaluamos la actividad tripanocida de las formulaciones liposomales en epimastigotes de *T. cruzi*. Los liposomas de ISO (72 hs de tratamiento) y LTD (48 hs de tratamiento) fueron activos contra este estadio con una efectividad mayor que los compuestos libres y el control benznidazol (BZL). Las IC<sub>50</sub> obtenidas para las formulaciones de ISO y LTD fueron de 7,5 µM y 15,7 µM, respectivamente. Para ISO, LTD y BZL libres los valores fueron significativamente mayores: 54,1 µM; 28,1 µM; y 33,6 µM (BZL 72 hs), 23,7 µM (BZL 48 hs), respectivamente.

La siguiente etapa del trabajo consistirá en evaluar la actividad tripanocida de ISO y LTD encapsulados en los liposomas respecto de los compuestos libres sobre tripomastigotes y células de mamíferos infectadas con *T. cruzi*.

### DT-008

#### Evaluación del uso terapéutico de una vacuna nasal administrada a ratones con infección crónica por *Trypanosoma cruzi*.

Paula Cacik<sup>1</sup>, Estefania Prochetto<sup>1</sup>, Maria Florencia Pacini<sup>2</sup>, Camila Bulfoni Balbi<sup>2</sup>, Brenda Dinatale<sup>2</sup>, Iván Bontempi<sup>1</sup>, Gabriel Cabrera<sup>1</sup>, Ana Rosa Pérez<sup>2,3</sup>, Iván Marcipar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Argentina., Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER-CONICET), Rosario, Argentina, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Argentina., Rosario, Argentina

Algunos trabajos experimentales sugieren que en la infección crónica por *T. cruzi*, el parásito invade células del tracto digestivo que presentan menor respuesta inmune, constituyendo un foco de diseminación periódica de la infección y que también explicaría la presencia de lesiones en corazón con baja carga parasitaria. Basándonos

en esa hipótesis, postulamos que una vacuna terapéutica nasal (VTN) que favorezca la respuesta inmune en mucosas podría ser beneficiosa para el tratamiento de Chagas crónico. Para estudiar esa hipótesis, aplicamos una VTN formulada con Transialidasa y adyuvante ISPA en ratones BABL/c previamente infectados en forma oral con la cepa Tulahuen cl2. Entre los 77 y los 107 días post infección (dpi) se aplicaron tres dosis de la VTN espaciadas cada 15 días. A los 45 dpi (antes de la VTN) y a los 135 dpi (luego de la VTN), se evaluaron anticuerpos IgG1 y IgG2a contra homogenato total (HT) y antígeno vacunal (TS), la funcionalidad cardíaca mediante electrocardiograma (ECG) y también transaminasas séricas indicadoras de daño tisular. A los 135 dpi los ratones vacunados desarrollaron mayores niveles de anticuerpos de tipo IgG2a contra TS en relación a los no vacunados e infectados ( $p < 0,05$ ). En los ratones infectados no tratados, las transaminasas presentaron un aumento significativo a los 45 y 135 dpi respecto a los no infectados ( $p < 0,05$ ), mientras que los vacunados presentaron niveles similares a los no infectados ( $p > 0,05$ ). En los ratones infectados no tratados se detectaron alteraciones del ECG que fueron significativas en relación a los no infectados, mientras que entre estos últimos y los que recibieron la VTN dichos valores no fueron significativamente diferentes. Los resultados parciales sugieren la formulación nasal disminuyen los niveles de lesiones en la etapa crónica de la infección. Nuevos experimentos de carga parasitaria, análisis histológicos e inmunológicos están en marcha para profundizar el estudio.

## DT-015

### Búsqueda computacional de nuevos inhibidores de la enolasa de *Trypanosoma cruzi*.

Marcos Rengifo, Facundo Galceran, Melisa Sayé, Belén Maciel, Fabio Digirolamo, Mariana R Miranda, Chantal Reigada, Claudio A Pereira

IDIM UBA CONICET, Buenos Aires, Argentina

En *Trypanosoma cruzi*, la enolasa (2-fosfo-D-glicerato hidrolasa) localizada en los glicosomas y en la membrana celular, cataliza la deshidratación reversible del D-2-fosfoglicerato (2PG) a fosfoenolpiruvato y participa tanto en la glucólisis como en la gluconeogénesis. La misma ha sido validada como una enzima esencial para la supervivencia del parásito constituyendo además un importante factor de virulencia. En este sentido, se han descrito a los bifosfonatos como potenciales inhibidores de la enolasa de *T. cruzi* (TcENO).

En este trabajo se realizó un rastreo virtual en bases de datos utilizando técnicas bioinformáticas basadas en similitud de ligandos como también en características estructurales de la enzima (*molecular docking*), buscando ampliar la cantidad de fármacos que podrían actuar como inhibidores de TcENO. Se utilizó el programa LiSiCA (Ligand Similarity using Clique Algorithm) en las bases de datos SWEETLEAD y FDA (U.S. Food and Drug Administration), para rastrear estructuras similares al sustrato de la enolasa (2PG) y a dos inhibidores caracterizados experimentalmente, 2-fluoro-2- fosfonoacético hidroxamato (FPAH) y fosfonoacético hidroxamato (PAH). De acuerdo al score obtenido se seleccionaron 12 compuestos para la segunda etapa de *molecular docking*. Utilizando el programa AutoDock 4, se comparó la interacción del 2PG, FPAH, PAH y las drogas obtenidas, con los residuos del sitio activo de TcENO. La energía de unión obtenida de las drogas identificadas se encuentra entre -3,48 y -11,24 kcal/mol, obteniéndose valores menores o iguales a la calculada para el sustrato y los inhibidores experimentales (entre -6.43 y -6.98 kcal/mol). Si bien 3 de los compuestos ya fueron reportados previamente como posibles inhibidores, se identificaron 9 nuevos potenciales inhibidores de TcENO incluyendo algunos bifosfonatos. Los próximos pasos serán las pruebas de inhibición de TcENO *in vitro*, y posteriormente el estudio de actividad tripanocida de dichos compuestos.

**DT-018****Estudio de potenciales blancos de nuevos compuestos heterolépticos de oxovanadio(IV) con ligandos activos en *Trypanosoma cruzi*.**

Gonzalo Scalese<sup>1</sup>, Ignacio Machado<sup>2</sup>, Leticia Pérez-Díaz<sup>3</sup>, Dinorah Gambino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área Química Inorgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Área Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La Química Inorgánica Medicinal constituye una alternativa prometedora en la búsqueda de una respuesta farmacológica para las enfermedades producidas por parásitos tripanosomátidos. En años recientes, nuestro grupo comenzó a trabajar de forma sistemática en el estudio de compuestos de vanadio para el tratamiento de enfermedades parasitarias. En ese marco, en este trabajo se estudió una serie de compuestos heterolépticos de oxovanadio (IV) estructuralmente relacionados, de fórmula global [V(IV)O(L-H) (mpo)], conteniendo ligandos bioactivos en *T. cruzi* derivados de la 8-hidroxiquinolina (L = L0-L4) y *N*-óxido de 2-mercaptopiridina (mpo). Los nuevos compuestos de vanadio fueron sintetizados y caracterizados exhaustivamente al estado sólido y en solución. Todos los compuestos mostraron actividad frente a tripomastigotas de *T. cruzi* superior a los ligandos libres y alta selectividad hacia los parásitos, determinada utilizando células VERO como células de mamífero modelo. El compuesto más activo de la familia afecta la capacidad de infección de los tripomastigotas celulares. El compuesto seleccionado mostró un bajo porcentaje de captura por parte del parásito y una asociación preferencial hacia las proteínas solubles del mismo. Se sugirió la generación de EROS como parte del mecanismo de acción y la inhibición de la enzima fumarato reductasa NADH dependiente. Este compuesto

resulta un punto de partida promisorio para el desarrollo de compuestos tripanocidas basados en vanadio.

**DT-024****CHAGAS CRONICO: IMPACTO DE LA TERAPIA TRIPANOCIDA SOBRE MARCADORES SEROLÓGICOS ASOCIADOS A MIMETISMO MOLECULAR.**

Verónica Olivera<sup>1</sup>, María Laura Bizai<sup>1</sup>, Evelyn Arias<sup>1</sup>, Santiago Suasnabar<sup>1</sup>, Iván Marcipar<sup>2</sup>, Diana Fabbro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación sobre Endemias Nacionales, Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

El escaso conocimiento de los mecanismos patogénicos en los infectados crónicos por *T. cruzi*, condujo a desalentar la administración del tratamiento etiológico. Evaluamos el valor pronóstico de Ac anti RA (P2B; M2) y B13, asociados a cardiopatía chagásica crónica (CCC) y, el efecto sobre ellos del tratamiento tripanocida.

El diseño fue un estudio de cohorte retrospectivo. Para cada uno de los marcadores estudiados, se realizó ELISA usando los antígenos recombinantes P2B, B13 y el kit Chagacor para M2. Analizamos 212 muestras de suero: 88 de 30 pacientes tratados y 124 de 47 infectados no tratados. Fueron grupos comparables en edad, sexo y tiempo de seguimiento: 25.8 ± 4.8 vs 23.2 ± 5.7 años. Desarrollaron CCC 1/30 (3,3%) tratados y 12/47 (25,5%) no tratados. El nivel de reactividad, medidos en unidades de cut-off, entre los infectados con y sin CCC fue: B13 2,38 ± 0,99 vs 2,85 ± 1,35 p=0,2832; P2B 2,90 ± 1,15 vs 2,74 ± 1,40 p=0,7251; M2 1,15 ± 0,99 vs 1,85 ± 1,84 p=0,2292, respectivamente.

En pacientes tratados la reactividad inicial y final fue: ELISA B13 83% vs 50%; ELISA P2B 73% vs 22%; ELISA M2 30% vs 7%. Mientras en pacientes

no tratados fue: ELISA B13 91% vs 91%; ELISA P2B 98% vs 98%; ELISA M2 49% vs 40%. Cuando comparamos los niveles de reactividad de estos marcadores (B13, M2 y P2B) en las sucesivas muestras de pacientes tratados, una significativa disminución en la respuesta fue observada a medida que aumentaban los años post-tratamiento (Anova,  $p < 0,05$ ); mientras los pacientes no tratados permanecieron sin cambios a lo largo de 23,2 años de seguimiento (Anova,  $p > 0,05$ ).

En los infectados por *T. cruzi* seguidos durante un tiempo muy prolongado, los anticuerpos anti-M2, P2B y B13 mostraron: a) escasa utilidad como marcador de evolución clínica ya que no hubo correlación entre sus niveles de reactividad y el desarrollo de CCC; b) la disminución o desaparición de estos anticuerpos por efecto del tratamiento sugiere que su naturaleza no es autoinmune.

## DT-037

### Diagnóstico serológico de *Trypanosoma vivax*: Evaluación y optimización del ensayo de ELISA.

Graciela Verónica Castro<sup>1</sup>, Genaro Díaz<sup>1</sup>, Martín Allasia<sup>2</sup>, Lihue Nadia González<sup>3</sup>, Diego Arias<sup>3</sup>, Iván Bontempi<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, FBCB, UNL, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Hospital de Salud Animal, FCV, UNL, Esperanza, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Enzimología Molecular. IAL-CONICET, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL, Santa Fe, Argentina

La Tripanosomiasis Bovina (TB) es una enfermedad que afecta al ganado bovino y en Argentina es causada principalmente por el protozoo *Trypanosoma vivax*. Presenta signos clínicos como fiebre intermitente, anemia, aborto, pérdida de peso e incluso la muerte. En Argentina no existe un diagnóstico serológico comercial, siendo la microscopia directa el principal diagnóstico de rutina, presentando baja sensibilidad e especificidad. Es por esto que son necesarias técnicas de diagnóstico sensibles y que detecten específicamente al parásito.

Anteriormente desarrollamos un ensayo de ELISA indirecto empleando dos proteínas recombinantes de *T. vivax*, para el diagnóstico de la TB. En este trabajo desarrollamos una proteína recombinante quimera de ambos antígenos y evaluamos su capacidad diagnóstica frente a un panel de 80 sueros de vacas lecheras Holstein positivos para *T. vivax*. Además, comparamos con la mezcla de los antígenos desarrollados anteriormente. Los resultados del ensayo de ELISA mostraron una sensibilidad y especificidad notablemente alta (96,77 % y 91,67%, respectivamente) y un área bajo la curva ROC de 0.99. El análisis de la comparación de la quimera vs la mezcla, arrojó que ambos ensayos permiten diferenciar entre positivos y negativos con una concordancia kappa de 0.9. En cuanto a la capacidad diagnóstica, la quimera presentó una media de relación de positivos y negativos superiores que el empleo de la mezcla. Concluimos que la quimera presenta la misma performance diagnóstica que el empleo de la mezcla, con una mayor discriminación entre sueros positivos y negativos. La posibilidad de emplear un único antígeno para el desarrollo del ensayo de diagnóstico facilita aún más el escalado y comercialización, independientemente sea la plataforma de diagnóstico empleada.

## DT-042

### EVALUACIÓN DE UN KIT MOLECULAR BASADO EN LAMP PARA LA VIGILANCIA DE LA EQUINOCOCOSIS CANINA.

Maria Lorena Ogas Castells<sup>1</sup>, Héctor Gabriel Avila<sup>2,3</sup>, Cecilia Mozzoni<sup>4</sup>, Adrian Vojnov<sup>1</sup>, Mara Rosenzvit<sup>5</sup>

<sup>1</sup>ICT Milstein - CONICET, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio Provincial de Zoonosis de San Juan, San Juan, Argentina. <sup>3</sup>CONICET, San Juan, Argentina. <sup>4</sup>Hospital zonal Caleta Olivia – Ministerio de salud y medio ambiente de Santa Cruz, Caleta Olivia, Argentina. <sup>5</sup>IMPAM-UBA-CONICET, CABA, Argentina

Las reacciones de LAMP (loop-mediated isothermal amplification) emplean 2 o 3 pares de primers que reconocen regiones flanqueantes a un pequeño fragmento central, otorgando especificidad para dicha secuencia. Estas reacciones emplean una ADN-polimerasa capaz de separar la doble cadena de ADN, por lo que la reacción ocurre a una sola temperatura. Durante la amplificación se generan estructuras secundarias en forma de bucles que sirven como templado para comenzar nuevos ciclos de amplificación, aumentando la sensibilidad de la técnica. En el año 2019, Avila y col., desarrollaron una reacción de LAMP para la detección en una sola reacción de *E. granulosus* s. s., *E. ortleppi* y *E. canadensis*, con elevada sensibilidad y especificidad analítica. En este trabajo se evaluó la sensibilidad y especificidad analítica de un prototipo de kit diagnóstico que simplifica la detección molecular y puede ser observada a ojo desnudo como un cambio de color. El kit utiliza tubos sensibilizados con una mezcla de primers y colorante, el resto de los componentes de reacción se presentan como una solución estable a 2-8°C. Se determinaron los tiempos de reacción y temperatura óptima como 54 °C y 90 min. La sensibilidad analítica fue evaluada con diluciones seriadas de ADN genómico de las tres especies. La especificidad analítica fue evaluada con ADN genómico parasitario, bacteriano y canino. El límite de detección de ADN genómico en cada una de las 3 especies fue de 10 fg y no se observaron reacciones cruzadas con otros ADNs que pudiesen estar presentes en heces caninas. El siguiente paso es la evaluación clínica con muestras de zonas endémicas y comparación de los resultados con otras técnicas de diagnóstico disponibles. Esta tarea se encuentra en desarrollo por el equipo de trabajo. De comprobarse su correcto desempeño, podría emplearse en laboratorios de baja complejidad permitiendo su uso en zonas endémicas con equipamiento básico como una heladera y un baño termostático.

## DT-050

### Evaluación de la susceptibilidad de *Tritrichomonas foetus* a extractos de *Lantana camara* (Verbenaceae) mediante citometría de flujo.

Lucía Alejandra López<sup>1,2</sup>, Melchor Emilio Luque<sup>1,2,3</sup>, María Eugenia Abdala<sup>1,3,2</sup>, Yerena de los Ángeles Krat<sup>3</sup>, María Belén Rivero<sup>1,2</sup>, Bibiana Julieta Volta<sup>2,3</sup>, Juan Martín Castellanos<sup>3</sup>, David Maximiliano Maldonado<sup>3</sup>, Pedro Gabriel Carranza<sup>1,2,3</sup>, Bruno Elías Luna<sup>1</sup>, David Di Lullo<sup>1</sup>, Sergio Rodríguez<sup>4</sup>, Fernando David Rivero<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>LaBIM, IMSaTeD (CONICET-UNSE), Santiago del Estero, Argentina. <sup>2</sup>FCM-UNSE, Santiago del Estero, Argentina. <sup>3</sup>FAYa-UNSE, Santiago del Estero, Argentina. <sup>4</sup>LAPOx (FAYa-UNSE-CONICET), Santiago del Estero, Argentina

La Tricomonosis Bovina (TB), enfermedad de transmisión sexual endémica en países con ganadería extensiva y servicio natural, representa una de las causas más comunes de falla reproductiva. Durante años se ha tratado con los 5-nitroimidazoles y sus derivados, principalmente el metronidazol (Mz). La aparición de mecanismos de resistencia frente a la droga plantea la necesidad de investigar nuevos principios activos que contribuyan al control de la parasitosis. Además, la FDA (*Food and Drug Administration*) prohíbe el uso de Mz en animales destinados a la producción de alimentos. Los extractos naturales son muy valorados como posible alternativa de tratamiento. En este sentido, extractos de *Lantana camara* han demostrado un alto potencial biocida frente a aislamientos de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania braziliensis* en ensayos in vitro, aunque no se había demostrado su efecto sobre *T. foetus*. Recientemente, en nuestro laboratorio, se ha descrito el uso de la citometría de flujo como método rápido y eficiente para evaluar viabilidad de *T. foetus* frente a Mz. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de extractos de *L. camara* frente a aislamientos de *T. foetus* mediante citometría de flujo. En condiciones aeróbicas, los valores de IC50 oscilaron alrededor de 22,60



µg/mL. En condiciones anaeróbicas, se obtuvieron valores de IC50 de 29,04 µg/mL en promedio. Las diferencias observadas entre ambas condiciones no resultaron significativas. El componente mayoritario del aceite esencial de *L. camara* es el β-cariofileno (45,6%), por lo que este podría ser responsable de dicha actividad. Los resultados obtenidos permitieron describir la susceptibilidad exhibida por estos protozoarios, siendo una valiosa información para el potencial desarrollo de un tratamiento alternativo o un coadyuvante para el tratamiento de la TB.

## DT-057

### **Evolución serológica, desarrollo de cardiopatía y mortalidad en infectados por *Trypanosoma cruzi* no tratados y tratados con drogas tripanocidas seguidos durante 30 años.**

Evelyn Arias, [Santiago Suasnábar](#), Verónica Olivera, María Laura Bizai, Diana Fabbro

Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales - Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas - Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

Actualmente, no hay evidencia suficiente sobre la eficacia de las drogas tripanocidas en la prevención del desarrollo de patología y reducción de la mortalidad.

Nuestro objetivo fue comparar los cambios serológicos, clínicos y la mortalidad entre adultos crónicos infectados por *T. cruzi* tratados y no tratados, asintomáticos al inicio, luego de 30 años de seguimiento.

Mediante un estudio de cohorte retrospectivo estudiamos 113 pacientes, entre 17 y 49 años de edad al inicio, con residencia estable en la ciudad de Santa Fe: 52 habían recibido tratamiento (Nifurtimox 24; Benznidazol 28) y 61 pacientes permanecieron sin tratar. Los grupos tratados y no tratados fueron comparables en edad, sexo,

tiempo de seguimiento y procedencia (Ecorregión del Gran Chaco).

Se observó seroconversión negativa en 67,3% de los pacientes tratados, sin diferencias entre las drogas, mientras los pacientes no tratados mantuvieron la serología positiva. La probabilidad de negativizar la serología no estuvo asociada a la edad en que recibieron tratamiento (test de log-rank  $p=0,35$ ) ni a la droga utilizada (test de log-rank= $0,79$ ).

Desarrollaron disturbios electrocardiográficos 5 pacientes del grupo tratado y 15 no tratados (test Fisher  $p=0,03$ ).

Fallecieron 10 personas del grupo tratado y 11 del no tratado. Muerte por cardiopatía chagásica crónica: 1/52 vs 2/61 para tratados y no tratados respectivamente (test Fisher  $p=0,56$ )

El tratamiento tripanocida además del alto efecto parasiticida tuvo un efecto protector en la evolución clínica, aunque no se observaron diferencias en la mortalidad entre los pacientes tratados y no tratados.

## DT-058

### **La actividad enzimática mitocondrial de la fracción linfomonocitaria como marcador temprano de patología en la enfermedad de Chagas.**

[Alejandra Báez](#)<sup>1,2</sup>, [Silvina Lo Presti](#)<sup>1,2</sup>, [Carolina Bazán](#)<sup>1,2</sup>, [Daniela Velázquez López](#)<sup>1</sup>, [Walter Rivarola](#)<sup>1,2</sup>, [Patricia Paglini](#)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudios e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup>Inicsa-CONICET, Córdoba, Argentina

El ingreso del *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) a las células produce reacciones inflamatorias que estimulan la producción de citoquinas y radicales libres responsables del daño oxidativo; lo que podría llevar a la insuficiencia cardíaca. Estudiamos la actividad de los complejos I y III (CI, CIII) de la cadena respiratoria en mitocondrias de la fracción linfomonocitaria, de modelos experimentales infectados con

diferentes cepas de *T. cruzi*, y en pacientes con serología positiva (de larga data) para enfermedad de Chagas, con el objetivo de determinar la participación de las mitocondrias como marcadores probables de evolución temprana y de variabilidad clínica de la miocardiopatía producida por *T. cruzi*.

Ratones Albino Swiss fueron infectados con cepa Tulahuen y aislamientos SGOZ12 y Lucky (n=30 por grupo); control (n=30). Pacientes: n=55 (43 con serología positiva, 12 controles) agrupados en: Chagas 1 (<40 años), Chagas 2 (>45) y controles 1 y 2 (sanos de ambas edades). La actividad enzimática se determinó por espectrofotometría, los datos se analizaron por ANOVA, Fisher Test. Nivel de significación  $p < 0.05$ .

En los modelos experimentales, CI y III se modificaron en los grupos infectados ( $p < 0.05$ ) en todas las etapas, según la cepa que infectó al huésped. En el grupo de pacientes se observó una disminución significativa de la actividad entre los controles, lo que demostraría que con la edad ésta disminuye. Mientras que en los pacientes con chagas se observó disminución de la actividad enzimática  $p < 0.05$ .

Los procesos inflamatorios son responsables de provocar modificaciones en las mitocondrias pudiendo ser detectadas mediante una extracción de sangre. Estos cambios serían importantes ya que, al aparecer antes de la manifestación clínica podrían prevenir la evolución de la enfermedad, pudiendo ser, la fracción linfomonocitaria, un marcador sencillo que ayude a frenar la evolución hacia la miocardiopatía chagásica, especialmente en la etapa crónica sin sintomatología.

## DT-060

**Farmacocinética y respuesta terapéutica al benznidazol en trigemelares pretérmino con transmisión vertical de la infección por *Trypanosoma cruzi*.**

Cintia Valeria Cruz<sup>1,2</sup>, Carlos Alberto Perez Montilla<sup>3</sup>, Franco Mauricio Mangone<sup>3</sup>, Noelia Anahí Bazán<sup>3</sup>, Fernanda Lascano<sup>3,2</sup>, Marina Martinez<sup>4</sup>, Karenith Santome<sup>4</sup>, Facundo Garcia Bournissen<sup>5</sup>, Juan Carlos Ramirez<sup>3</sup>, Jaime Altcheh<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Mahidol Oxford Research Unit, Bangkok, Thailand.

<sup>2</sup>Servicio de Parasitología y Chagas, Hospital de Niños Ricardo Gutierrez, CABA, Argentina. <sup>3</sup>Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA), CABA, Argentina.

<sup>4</sup>Servicio de Neonatología, Hospital Gral. de Agudos Dr. C. Argerich, CABA, Argentina. <sup>5</sup>Schulich School of Medicine and Dentistry Western University, Ontario, Canada

En el marco de un estudio multicéntrico para la validación de la PCR en tiempo real (qPCR) para el diagnóstico y seguimiento de recién nacidos de madres con la enfermedad de Chagas, se diagnosticaron trigemelares pretérmino extremo (27 semanas) con infección por *Trypanosoma cruzi* de una madre sin tratamiento previo. En este contexto, nos propusimos monitorear la farmacocinética y la respuesta terapéutica al benznidazol de estos pacientes. El diagnóstico se realizó mediante examen parasitológico (MH) y qPCR de muestras de sangre. Confirmada la infección, se indicó tratamiento con Benznidazol 12.5 mg (BNZ) a 5 mg/kg/día por 30 días, diluido en leche y administrado por sonda nasogástrica. Para la medición de la concentración de BNZ por espectrometría de masas se tomaron muestras de sangre en papel de filtro y la respuesta terapéutica se monitoreó mediante qPCR. El primer neonato gemelar presentó miocarditis y enfermedad de membrana hialina; falleció a los 6 días de vida sin iniciar tratamiento. El segundo neonato requirió 48 horas de asistencia respiratoria mecánica por enfermedad de membrana hialina con buena evolución posterior al tratamiento. El tercer neonato presentó anasarca, anemia y hepatomegalia con regular evolución clínica. Este paciente tuvo persistencia positiva de la qPCR asociada a intolerancia oral al medicamento, y se indicó un segundo ciclo de BZN por 30 días, con buena evolución y negativización de la qPCR. La concentración de BNZ tuvo un rango de 101-2146  $\mu\text{g}/\text{dl}$  en ambos pacientes, significativamente menor a la esperada. Aun así,

la respuesta terapéutica fue adecuada. Este es el primer estudio de dosaje de BNZ en neonatos prematuros. El seguimiento por qPCR permitió la detección temprana de una inadecuada respuesta terapéutica relacionada a la dificultad de la administración en un paciente crítico. Se resalta la importancia del tratamiento antiparasitario de personas con potencial gestacional para prevenir el Chagas vertical.

## DT-061

### Diagnóstico molecular de la infección vertical por *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangre en papel de filtro Whatman 903.

Noelia Anahí Bazán<sup>1</sup>, Laura Smeldy Jurado<sup>1</sup>, Griselda Ballering<sup>2</sup>, Fernanda Lascano<sup>2</sup>, Nicolás González<sup>2</sup>, Samanta Moroni<sup>2</sup>, Guillermo Moscatelli<sup>2</sup>, Juan Carlos Ramírez<sup>1</sup>, Jaime Marcelo Altcheh<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina

El Programa de Pesquisa Neonatal utiliza el papel de filtro Whatman 903 como soporte para la conservación y el traslado de las muestras de sangre. La inserción en este programa del diagnóstico de Chagas vertical permitiría reducir el número de niños infectados que no llegan a ser diagnosticados en los primeros meses de vida. En este contexto, nos propusimos evaluar la sensibilidad y la especificidad de la PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular de la transmisión vertical de la infección por *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangre en papel de filtro Whatman 903. Para este estudio, se reclutaron 38 recién nacidos, hijos de madres con la enfermedad de Chagas. Se tomaron muestras de sangre en papel de filtro Whatman 903 y en solución de guanidina-EDTA para el análisis por PCR. Además, se realizó la confirmación del diagnóstico por las pruebas de referencia: microhematocrito (menores de 10 meses) y serología (mayores de 10 meses). Se

determinaron los parámetros diagnósticos de la PCR en base a los resultados de las pruebas de referencia y se obtuvieron las curvas ROC y el área bajo la curva. De los 38 recién nacidos, 4 resultaron infectados y 34 negativos. El ensayo de PCR tuvo una sensibilidad y especificidad del 100%, tanto para las muestras de sangre en papel de filtro como para aquellas en solución de guanidina-EDTA. Por su parte, el MH tuvo 100% de especificidad y una sensibilidad del 50%. El diagnóstico de los dos niños infectados con resultados falsos negativos para el MH fue confirmado por serología reactiva a los 14 meses de edad en uno de los casos y, en el otro, por el resultado positivo de la PCR, clínica compatible y resultados negativos para otras infecciones perinatales. Este trabajo respalda el uso de las muestras del Programa de Pesquisa Neonatal para el diagnóstico molecular de Chagas vertical y confirma el impacto de la implementación de esta estrategia en la temprana detección de la enfermedad.

## DT-062

### Efecto del sorafenib tosilato durante la infección con *Trypanosoma cruzi* en células Vero.

Anahí Níttolo<sup>1,2</sup>, Agustina Chidichimo<sup>1</sup>, Federico Gonzalez<sup>2</sup>, Ana Laura Benacerraf<sup>3</sup>, Valeria Tekiel<sup>1</sup>, Gabriela Levy<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas. Escuela de Bio y Nanotecnologías (EBYN). Universidad Nacional de San Martín - CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de La Matanza, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Bioquímica y Farmacología Molecular, NYU Langone Health, USA, Nueva York, USA

En nuestro laboratorio estudiamos la regulación de la expresión de genes en Tripanosomátidos. En particular nos centramos en el estudio de las proteínas de unión a ARN TbRRM1 de *T. brucei* y TcSR62 de *T. cruzi*. Demostramos que TbRRM1 es esencial en dos estadios de *T. brucei* y que estaría involucrada en la regulación de la formación de heterocromatina, mientras que la

función de TcSR62 aún no ha sido estudiada. Anteriormente, se realizaron ensayos de modelado y *docking* molecular de los dominios de unión a ARN de TcSR62 y se obtuvieron una serie de compuestos de reposicionamiento candidatos a inhibir la función de estos dominios. Ensayos realizados en tripomastigotes de la cepa RA de *T. cruzi* mostraron que uno de ellos, el sorafenib tosilato, presentó una IC50 de 1,2  $\mu$ M y no resultó tóxico para las células Vero. Dados estos resultados, decidimos estudiar el efecto del sorafenib tosilato en modelos de infección in vitro. En primer lugar, se estudió el efecto de este compuesto durante el proceso de infección con tripomastigotes de la cepa Tulhauen transfectados con la enzima  $\beta$ -galactosidasa. Luego de 24 h de infección se realizó el tratamiento con el compuesto por 72 h y se obtuvo una IC50 de 1,9  $\mu$ M. Luego, para evaluar el efecto del compuesto en amastigotes, se realizó la infección de células Vero con tripomastigotes de la cepa CL, obteniéndose valores similares de IC50. Además, se demostró que el tratamiento con 2  $\mu$ M de sorafenib tosilato, reduce considerablemente el porcentaje de células infectadas, el número de amastigotes por células y el índice endocitométrico, demostrando la inhibición de la replicación de los amastigotes. Si bien aún resta evaluar si el sorafenib tosilato interactúa con la proteína TcSR62, nuestros resultados muestran su efecto tripanocida en diferentes cepas de *T. cruzi*, con bajos niveles de toxicidad, por lo que este compuesto es un candidato prometedor para mejorar la calidad de vida de pacientes que sufren infección por *T. cruzi*.

## DT-065

### Optimización de técnicas de PCR para la detección de los microsporidios *Encephalitozoon hellem*, *E. intestinalis* y *E. cuniculi* en muestras de materia fecal.

Cristian Mena<sup>1</sup>, Ronalda Silva de Araújo<sup>2</sup>, Verónica Burstein<sup>1</sup>, Lorena Guasconi<sup>1</sup>, Ignacio Beccacece<sup>1</sup>, Mariel Almeida<sup>1</sup>, Sabrina Bossio<sup>1</sup>, Andres Barnes<sup>3</sup>, Laura Cervi<sup>1</sup>, Maria Anete Lallo<sup>2</sup>, Laura S Chiapello<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET)., Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Patología Ambiental e Experimental. Universidade Paulista, São Paulo, Brazil. <sup>3</sup>Hospital Rawson, Córdoba, Argentina

Los microsporidios son patógenos oportunistas en individuos inmunocomprometidos, causando diarrea crónica e infecciones diseminadas. Previamente, hemos estandarizado una Nested PCR para la detección de *Enterocytozoon bieneusi* en heces, la especie más frecuentemente aislada. Sin embargo, especies de *Enterocytozoon* también pueden causar síndrome debilitante.

El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes técnicas de PCR para la detección de *Encephalitozoon intestinalis*, *E. hellem* y *E. cuniculi* en cultivos celulares infectados con esporas y en muestras de materia fecal (MF).

Se realizaron infecciones de la línea celular RK13 con esporas de *E. intestinalis*, *E. hellem* o *E. cuniculi*. Las células infectadas fueron lisadas y las esporas se detectaron por coloración Tricrómica de Weber. La extracción de ADN se realizó de esporas provenientes de cultivo y de MF de individuos sanos previamente inoculadas con esporas. Se evaluó el rendimiento y calidad de ADN (NanoDrop™, Themofisher) de diferentes técnicas de extracción utilizando dos kits comerciales (Qiagen®/Productos Biológicos®), siguiendo los protocolos de los fabricantes o realizando modificaciones. Se evaluó una PCR dirigida contra el ADN ribosomal de varios géneros de microsporidios (PCR panmicrosporidia) y una PCR con primers específicos para *E. intestinalis*.

El mejor rendimiento y calidad de ADN se obtuvo con el kit Qiagen, con modificaciones en incubación a 65°C previo a la lisis y ruptura mecánica con perlas de vidrio. La PCR panmicrosporidia fue eficiente en amplificar una banda de 1200-1300pb (específica de microsporidios) a partir de ADN de los cultivos

infectados y de las heces inoculadas con *E. hellem* y *E. cuniculi*. Se obtuvo amplificación de un producto de 930pb específico de *E. intestinalis* utilizando una PCR específica a partir de cultivos celulares. Estos resultados demuestran que ambas PCR son buenas candidatas para continuar en su optimización para aplicación en el diagnóstico de microsporidiosis.

## DT-066

### Diagnóstico de enteroparásitos en pacientes derivados al CENPETROP durante el periodo 2021-2022.

Marcos Espinosa<sup>1</sup>, Mirta Liliana Mierez<sup>1,2</sup>, Adriana Ines Fleitas<sup>1,2</sup>, Osvaldo Benitez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología (Parasitología) Facultad de Medicina – Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina. <sup>2</sup>Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP), Corrientes, Argentina

Las enteroparasitosis son un problema de salud pública a nivel mundial y sobre todo en áreas con deficiencias socioeconómicas y sanitarias. Esto se ve favorecido por las características geográficas, climáticas, socioeconómicas y de infraestructura sanitaria de la provincia de Corrientes.

Objetivo: Determinar la frecuencia de enteroparásitos en pacientes derivados al CENPETROP entre febrero 2021 y agosto 2022. Se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal, observacional. Se incluyeron pacientes derivados para estudio coproparasitológico desde centros asistenciales de salud públicos y privados de la provincia de Corrientes, por signos o síntomas de sospecha de parasitosis. Heces frescas y preservadas fueron procesadas por métodos como Hoffman, Pons y Janner, Baerman y Harada-Mori, y test de Graham para mucus perianal. Se examinaron un total de 52 pacientes, 20 (38,5%) varones y 32 (61,5%) mujeres, entre 17 meses y 81 años. Se hallaron parásitos en 17 (32,7%) personas,

correspondientes al 50% de los varones y al 21,9% de las mujeres estudiadas. Se observaron 6 especies diferentes de organismos: 3 de protozoos y 3 de helmintos.

En el 88% de las muestras positivas se encontraron protozoos parásitos y comensales, siendo el más frecuente *Blastocystis hominis* en un 76%, *Entamoeba coli* en el 18% y *Endolimax nana* en 6%. El 29% dio positivo para helmintos, encontrándose *Strongyloides stercoralis* y *Enterobius vermicularis* en igual proporción (11%) y *Necator americanus* en 6%. Hubo 12 casos de monoparasitismo y 5 de biparasitismo. Como se ha demostrado en publicaciones anteriores realizadas por CENPETROP, el parásito más frecuentemente encontrado fue *B. hominis*. Se ha observado, en comparación con trabajos anteriores, una reducción de parasitados por *S. stercoralis*, debiéndose apoyar este dato en un futuro con estudios que incluyan mayor muestra. El escaso número de pacientes analizados tiene relación con la disminución de consultas debido al contexto sanitario.

## DT-067

### MAPEO ANTIGÉNICO DE TSSA: HACIA UNA ESTRATEGIA DE SEROTIPIFICACIÓN DE *Trypanosoma cruzi*.

Guadalupe Romer, Virginia Balouz, Leonel Bracco, Alejandro Ricci, Fernán Agüero, Carlos Buscaglia

IIBio, San Martín, Argentina

*Trypanosoma cruzi* se clasifica en 6 linajes evolutivos principales o DTUs (discrete typing units). Estos DTUs, denominados TcI a TcVI son heterogéneos genéticamente, lo cual impacta a nivel fenotípico en diversos parámetros. TSSA es una molécula de superficie polimórfica entre las distintas DTUs de *T. cruzi*. Cada isoforma, TSSAI a TSSAIV, correlaciona con las DTUs TcI a TcIV, respectivamente; TcV y TcVI presentan las isoformas TSSAII y TSSAIII. Los polimorfismos de

TSSA determinan un reconocimiento isoforma-específico por parte de los anticuerpos, y esta especificidad resulta de interés para el desarrollo de herramientas de serotipificación directa de *T. cruzi* aplicables tanto para diagnóstico como para ensayos epidemiológicos. Sin embargo, la baja prevalencia y la similitud alélica entre algunas TSSAs son características a resolver con el fin de optimizar la resolución y especificidad de esta herramienta. Utilizando microarreglos peptídicos y sueros provenientes de Argentina, identificamos dos epítopes dentro de la región inmunogénica de TSSAII. En este trabajo, expandimos este análisis a todas las TSSAs utilizando sueros provenientes de Argentina, Brasil, Bolivia, Colombia, México y EE.UU. Además, incluimos secuencias químéricas derivadas de las TSSAs y variantes artificiales (alanine scanning). Con este análisis, evidenciamos diferencias a nivel de reactividad y seroprevalencia entre las isoformas, confirmando la preponderancia de TSSAII en ambos aspectos. También encontramos similitudes en los perfiles de antigenicidad para TSSAII entre los diferentes países, validando los epítopes recientemente definidos e identificamos residuos clave para el reconocimiento, principalmente entre las posiciones variables entre isoformas. Estos estudios nos permitirán refinar las herramientas de serotipificación disponibles actualmente, impactando en el esclarecimiento del rol de la diversidad genotípica de *T. cruzi* en la enfermedad de Chagas.

## DT-072

### Diagnóstico molecular temprano de Chagas vertical: Transferencia a maternidades de instituciones de salud pública en América Latina.

Lady García-Casares<sup>1</sup>, Silvia A. Longhi<sup>1</sup>, Arturo Muñoz-Calderón<sup>1</sup>, Mirko Rojas-Cortez<sup>2</sup>, Julio Alonso-Padilla<sup>2</sup>, Alejandro G. Schijman<sup>1</sup>, Chagas GHIT-Group<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>ISGlobal, Barcelona, Spain. <sup>3</sup>Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

El control de la transmisión materno-fetal del *Trypanosoma cruzi*, causante de Chagas vertical (ChV), es prioridad en salud pública, pues esta forma de transmisión es más frecuente en donde se ha logrado el control vectorial o en regiones no-endémicas, siendo la infección identificable al nacimiento y lo más importante, tratable.

En el marco del proyecto Chagas-LAMP (Consortio Público-Privado internacional financiado por GHIT y Fund Mundo Sano) hemos transferido la metodología de amplificación isotérmica mediada por asas (LAMP) para el diagnóstico molecular rápido de ChV a 5 maternidades de Bolivia y 2 de Argentina. En este proyecto además participan 2 maternidades de Paraguay, a las cuales se les transferirá la técnica en los próximos meses. Entre los 9 sitios se han incluido, hasta el momento, 605 niños/as. En el proceso de transferencia y entrenamiento técnico del personal de laboratorio, se procesaron un total de 151 muestras de sangre anticoagulada con heparina (30 µL) obtenidas de bebés recién nacidos de madres infectadas con *T. cruzi*. Se obtuvieron 3 muestras positivas para LAMP (2% positividad), de las cuales solo 1 fue positiva por examen parasitológico. Como prueba comparadora de LAMP, se utilizó la reacción de PCR en tiempo real con sondas TaqMan (*T. cruzi* DNA test, WienerLab). Hasta ahora, contamos con 1 resultado positivo de PCR de 139 reacciones realizadas a partir de muestras que pertenecen a 3 sitios.

Los resultados parciales, ya obtenidos, sugieren que el LAMP podría funcionar como una herramienta de diagnóstico temprano de ChV sensible y rápida. De demostrarse esto, el LAMP podría ser recomendado como método de diagnóstico molecular en puntos de atención y ser incorporado, como se ha realizado recientemente con la técnica de PCR en tiempo real, al algoritmo diagnóstico de ChV en las guías del Ministerio de Salud de la Nación <https://bancos.salud.gov.ar/sites/default/files/2022->

06/Algoritmos\_d\_diag\_y\_trat\_IP\_VIH\_Sifilis\_VH  
B\_y\_Chagas\_en\_pliego.pdf

### DT-073

## IMPLEMENTACIÓN DE UN DISPOSITIVO DE FORMACIÓN Y DIAGNÓSTICO DE CHAGAS EN CARRERAS DE GRADO EN SALUD, CON ENFOQUE SOCIO-COMUNITARIA, QUE PERMITE LA INTEGRACIÓN DE LA UNIVERSIDAD, EL SISTEMA CIENTÍFICO Y ORGANISMOS DE SALUD.

Cecilia Saux<sup>1</sup>, Gabriela Levy<sup>2,3</sup>, Pamela Peyran<sup>4</sup>, Maria Noel Lopez<sup>1</sup>, Daniela Ruiz<sup>4</sup>, Juan Burgos<sup>5,3</sup>, Margarita Bisio<sup>4,3</sup>, Leonel Tesler<sup>1</sup>, Soledad Santini<sup>4,3</sup>, Rocío Rivero<sup>4,1</sup>

<sup>1</sup>UNPAZ, J. C. Paz, Argentina. <sup>2</sup>UNLAM, La Matanza, Argentina. <sup>3</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>INP, Buenos Aires, Argentina. <sup>5</sup>IIB, San Martín, Argentina

La enseñanza de la problemática de Chagas, tradicionalmente, se ha reducido a la dimensión biomédica y epidemiológica. Ésto dificulta el abordaje integral y por consiguiente el diagnóstico oportuno y la atención de la infección, especialmente en territorios urbanos donde no se encuentra el vector. Las universidades de José C Paz y La Matanza tienen una propuesta de enseñanza que se centra desde lo pedagógico en el trabajo individual y colectivo de lxs estudiantes y desde el aspecto sanitario en orientación a estrategias de atención primaria de la salud. El objetivo de este trabajo es reflexionar sobre las prácticas de sensibilización dirigidas a alumnxs de carreras en salud de estas universidades realizadas por el Instituto Nacional de Parasitología.

La educación del personal de salud es clave para el control y vigilancia de esta infección por lo que diseñamos, en el contexto del Día Nacional por una Argentina sin Chagas, talleres para estudiantes de carreras de salud que permitan

reflexionar sobre el abordaje histórico e interdisciplinario de la problemática y ofrecer la opción de tamizaje de la infección. Al inicio del taller se indagó sobre las percepciones en torno a la palabra Chagas y se expusieron los resultados. La mayoría de las respuestas apuntaban a las dimensiones biomédicas. Al finalizar la jornada se volvió a preguntar y los resultados se orientaron hacia las dimensiones reforzadas: políticas, sociales, de perspectiva de derechos y hacia la investigación translacional. Por otro lado, se ofreció la posibilidad del testeo a quienes cumplieran los criterios epidemiológicos. Se consolidó así una experiencia de integración de la universidad, el sistema científico y organismos de salud que puede utilizarse como dispositivo integral, que permita la sensibilización en el proceso de enseñanza-aprendizaje de lxs futuros profesionales de la salud y el testeo a estudiantes bonaerenses.

### DT-077

## Aislamiento de un compuesto promisorio con actividad antiparasitaria de *Mikania periplocifolia* (Asteraceae).

Cecilia Laura Laurella<sup>1</sup>, Tomás Sgarlata<sup>1</sup>, Rachel Nápoles Rodríguez<sup>2</sup>, Juan Matías Viencenz<sup>3</sup>, Esteban Bontempi<sup>3</sup>, Silvia I Cazorla<sup>4</sup>, Valeria P Sülsen<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacognosia, FFyB, UBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET-UBA, IQUIMEFA, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>INP-ANLIS, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>CONICET – CERELA, San Miguel de Tucumán, Argentina

La enfermedad de Chagas, la tripanosomiasis africana y la leishmaniasis son consideradas, entre otras, enfermedades tropicales desatendidas. La Organización Mundial de la Salud estima que más de mil millones de personas a nivel mundial padecen al menos una de estas parasitosis (1). El tratamiento actual de estas enfermedades involucra drogas de uso limitado debido a los efectos adversos asociados, la aparición de resistencia y, en

algunos casos, la desventaja de su administración por vía parenteral, entre otros. Los compuestos naturales han hecho una contribución importante a la terapéutica. Entre las drogas antiparasitarias utilizadas actualmente se encuentran la quinina y la artemisinina, ambas utilizadas en el tratamiento de la malaria.

Los extractos de diferentes especies del género *Mikania* han presentado actividad antiparasitaria y a partir de algunas de ellas se han aislado compuestos activos (2,3). En este sentido, el objetivo de este trabajo fue estudiar el extracto de *Mikania periplocifolia*, en la búsqueda de nuevas moléculas bioactivas frente a protozoos.

Se preparó el extracto diclorometano de *M. periplocifolia* y se fraccionó por cromatografía en columna. La purificación de una de las fracciones activas condujo al aislamiento del compuesto A. La actividad antiprotozoaria del compuesto A se evaluó in vitro frente a *Trypanosoma cruzi*, *T. brucei* y *Leishmania braziliensis*. Éste resultó activo frente a epimastigotes y amastigotes de *T. cruzi* con valores de IC50 de 2,5 y 7,7 µg/ml, respectivamente, frente a tripomastigotes de *T. brucei* (IC50= 0,16 µg/ml) y a promastigotes de *L. braziliensis* (IC50= 0,6 µg/ml). Las características de revelado y espectroscópicas del compuesto A indican que se trataría de un compuesto de naturaleza terpénica. Los resultados obtenidos destacan el potencial de *M. periplocifolia* como fuente potencial de compuestos promisorios con actividad tripanocida y leishmanicida

## DT-078

### Evaluación de una ciclofilina secretada del *Trypanosoma cruzi* como marcador temprano de la eficacia del tratamiento tripanocida.

Alina E. Perrone<sup>1</sup>, Gina Tufo<sup>1,2</sup>, Mariana Pinillo<sup>1</sup>, Marisa Fernández<sup>1</sup>, Marcela Rial<sup>1</sup>, Natalia Milduberg<sup>1,3</sup>, Carolina González<sup>1,3</sup>, Patricia L. Bustos<sup>1,3</sup>, Laura E. Fichera<sup>1,3</sup>, Jacqueline Bua<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chabén – ANLIS Malbrán., Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CAECIHS - UAI, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina

Las ciclofilinas son enzimas que isomerizan las uniones del aminoácido prolina, interviniendo en el plegamiento de las proteínas. La *TcCyP19* del *Trypanosoma cruzi* es la ciclofilina de mayor abundancia en el parásito, que se expresa y se secreta al medio extracelular en todos los estadios parasitarios estudiados. *TcCyP19* es reconocida por anticuerpos específicos en el suero de ratones y pacientes infectados. Con el objetivo de evaluar si *TcCyP19* podría ser un biomarcador de respuesta al tratamiento tripanocida, analizamos la presencia de anticuerpos contra esta proteína en sueros provenientes de ratones infectados y tratados con un esquema combinado de Benznidazol (BNZ) + Allopurinol (Alo) y en sueros de pacientes tratados con BNZ, por una técnica de enzimoinmunoensayo en microplacas.

Los ratones infectados por *T. cruzi* en su etapa crónica y tratados con BNZ+Alo evidenciaron una significativa disminución de la reactividad contra *TcCyP19* tanto en los tratamientos continuos como intermitentes. Las muestras de ratones infectados y tratados en la fase aguda con bajas dosis de BNZ-nanopartículas no evidenciaron diferencias significativas con la reactividad de los sueros de ratones en la fase aguda no tratados. Analizamos la reactividad para la proteína *TcCyP19* en muestras de suero de seis pacientes seropositivos para la infección por *T. cruzi*, que fueron tratados con BNZ con 5 mg/kg/día, dos dosis diarias, por 60 días. Tres pacientes fueron seguidos durante 5 años y dos de ellos durante 9 años. En tres de los pacientes estudiados no se observó reactividad contra *TcCyP19* en sus muestras post-tratamiento. Sin embargo, en otros tres, la reactividad contra *TcCyP19* fue marcadamente disminuida respecto de la reactividad de las mismas muestras en la ELISA convencional con los antígenos totales del parásito. Estos resultados exploratorios avalan seguir profundizando los estudios con la *TcCyP19* del *T. cruzi* como un marcador serológico temprano de la efectividad terapéutica.



**DT-081*****Helianthus tuberosus*: fuente de compuestos con actividad tripanocida.**

Rachel Nápoles Rodríguez<sup>1</sup>, Juan Matías Viecienz<sup>2</sup>, Esteban Bontempi<sup>2</sup>, María Elisa Lombardo<sup>3</sup>, Valeria Patricia Sülsen<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>CONICET-UBA, IQUIMEFA, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Parasitología, ANLIS “Carlos G. Malbrán”, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET-UBA, CIPYP, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Cátedra de Farmacognosia, FFyB, UBA, Buenos Aires, Argentina

La tripanosomiasis africana humana, también denominada enfermedad del sueño, es una parasitosis causada por el protozoo *Trypanosoma brucei*, un parásito unicelular que se aloja en el torrente sanguíneo, los espacios intersticiales de los tejidos periféricos y eventualmente en el cerebro donde conduce al coma y la muerte en ausencia de tratamiento. Esta enfermedad ocurre en 36 países del África subsahariana donde la mosca tsetse es la responsable de su transmisión (1).

Existen 5 fármacos disponibles para el tratamiento de forma rutinaria de esta enfermedad: pentamidina y suramina para tratar la enfermedad en la primera etapa, y melarsoprol, eflornitina y nifurtimox para la segunda etapa, ya que estas drogas son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica, a diferencia de los primeros. El tratamiento resulta costoso, tóxico y un blanco de resistencia; es por ello que la búsqueda de alternativas terapéuticas constituye una necesidad. La familia Asteraceae se destaca a nivel mundial debido a que varias especies son utilizadas con fines medicinales y constituyen una fuente importante de compuestos bioactivos (2).

En el presente trabajo se evaluó la actividad frente a tripomatigotes de *Trypanosoma brucei* del extracto diclorometánico de *Helianthus tuberosus* y uno de sus compuestos mayoritarios, aislado y purificado a partir del mencionado extracto mediante métodos cromatográficos. Para el extracto a

concentraciones de 10 y 1 ug/ml se obtuvieron valores de inhibición de 97,66% y 59,35% respectivamente. Mientras que para el compuesto se obtuvo un valor de IC50=0.46ug/ml. De acuerdo con los datos cromatográficos y espectroscópicos, se trataría de un compuesto sesquiterpénico. Los resultados obtenidos son prometedores y justifican se continúe el estudio del terpeno aislado, así como la búsqueda de nuevos con actividad tripanocida a partir del extracto activo.

**DT-082****Conformación de la Red Nacional de Centros Procesadores de Muestras de PCR en tiempo real para el diagnóstico de infección vertical por *Trypanosoma cruzi*.**

Constanza Lopez-Albizu<sup>1</sup>, Victoria Andrade<sup>1</sup>, Emmaría Danesi<sup>2</sup>, M. Luz Benvenuti<sup>3</sup>, Valeria Astaburraga<sup>3</sup>, Mario Bustos Guillen<sup>4</sup>, Ortíz Belén<sup>4</sup>, Susana Guignard<sup>5</sup>, Ana Willington<sup>5</sup>, Gonzalo Castro<sup>5</sup>, Micaela Brunetto<sup>5</sup>, Gustavo Silva<sup>6</sup>, Marcelo Ovejero<sup>7</sup>, Sergio Lejona<sup>8</sup>, Paola Zago<sup>9,10</sup>, Andrea Ayala<sup>11</sup>, Marilina Rahal<sup>12</sup>, Alan Gomez<sup>12</sup>, Marcelo Batalla<sup>13</sup>, Mauricio Di Paola<sup>13</sup>, Magalí Perez Garófalo<sup>13</sup>, Ana Buchovsky<sup>13</sup>, Cecilia Irurtia<sup>14</sup>, Soledad Santini<sup>1,15</sup>, Margarita Bisio<sup>1,15</sup>

<sup>1</sup>INP Dr. Mario Fatała Chaben, ANLIS Malbrán, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CENDIE, ANLIS-Malbrán, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>HIGA Dr. José Penna, Bahía Blanca, Argentina. <sup>4</sup>Laboratorio de Salud Pública, Mendoza, Argentina. <sup>5</sup>Laboratorio central, Córdoba, Argentina. <sup>6</sup>Laboratorio de Alta Complejidad, Posadas, Argentina. <sup>7</sup>CEAMM, Santiago del Estero, Argentina. <sup>8</sup>CEMAR, Rosario, Argentina. <sup>9</sup>Laboratorio de Biología Molecular y Genética, HPMI, Salta, Argentina. <sup>10</sup>CONICET, Salta, Argentina. <sup>11</sup>Laboratorio Central de Salud Pública, Resistencia, Argentina. <sup>12</sup>Laboratorio Central, Área Biología Molecular, Hospital El Cruce, Florencio Varela, Argentina. <sup>13</sup>Laboratorio Central, Hospital Garrahan, Buenos Aires, Argentina. <sup>14</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Hospital Profesor A. Posadas, Morón, Argentina. <sup>15</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina

En 2022, en base a la experiencia obtenida por el Instituto Nacional de Parasitología y a la evidencia publicada, el Ministerio de Salud de la Nación incluyó en el algoritmo de diagnóstico de Chagas vertical la utilización de PCR en tiempo real (PCRq-Tc). En este marco, se impulsó la

formación de una Red de Centros Regionales de Procesamiento de Muestras de PCRq-Tc (CRPM) brindando cobertura a todo el territorio nacional. El objetivo de este trabajo fue describir las capacidades de los CRPM e iniciar un proceso de armonización de los ensayos de PCRq-Tc. Para conocer las capacidades de los laboratorios, se realizó un relevamiento de los recursos de 14 centros con experiencia en PCRq-Tc. Teniendo en cuenta las respuestas, se envió a los CRPM seleccionados un panel de muestras (PM) negativas y positivas con dos concentraciones de ADN de *T. cruzi*, menores a las observadas en pacientes con infección vertical, para procesar según sus procedimientos de rutina. Se seleccionaron 11/14 CRPM. Todos contaban con personal capacitado, áreas sectorizadas, equipamiento para PCRq y experiencia en diagnóstico molecular. Los CRPM utilizaban diferentes métodos de extracción de ADN (6 automatizado y 5 por columna), termocicladores (4 marcas diferentes) e insumos para amplificación (6 mezcla casera, 3 comercial, 2 no tenían). El laboratorio organizador y 7/11 (64%) CRPM procesaron el PM, en un tiempo de 10 días, utilizando 12 métodos diferentes. Se obtuvo 83% y 25% de positividad en muestras contaminadas con ADN de *T. cruzi* y 100% de negatividad en las negativas. En base a los resultados obtenidos se propone armonizar y estandarizar los procesos, redactar manuales operativos, calcular los parámetros analíticos globales de la red según guías internacionales y fortalecer un trabajo en red que permita la mejora continua. Conocer las capacidades de los CRPM nos permitirá orientar los esfuerzos para aumentar la cobertura y acreditar los procedimientos asegurando la calidad del diagnóstico.

## DT-089

### **Tc323: Una nueva proteína de *Trypanosoma cruzi* como potencial marcador de diagnóstico de la Enfermedad de Chagas.**

Micaela S. Ossowski<sup>1</sup>, Juan P. Gallardo<sup>1</sup>, Marisa Fernandez<sup>2</sup>, Yolanda Hernandez<sup>2</sup>, Raul Chadi<sup>3</sup>, Mariana Potenza<sup>1</sup>, Karina A. Gómez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología e Inmunología de las Infecciones por Tripanosomátidos. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular "Dr. Héctor N. Torres" (INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatale Chabén", Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Hospital Nacional de Agudos "Dr. Ignacio Pirovano", Buenos Aires, Argentina

La enfermedad de Chagas (EC) es una zoonosis potencialmente mortal causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*. El diagnóstico de la EC crónica (EChc), según recomendación de la Organización Mundial de la Salud, requiere el uso de al menos tres métodos serológicos. Sin embargo, ninguno de ellos presenta 100% de sensibilidad y especificidad, lo que impulsa a la búsqueda de pruebas más específicas y sensibles. Con base en lo expuesto, nuestro objetivo fue evaluar la utilidad diagnóstica de una proteína hipotética de *T. cruzi*, denominada Tc323. Esta proteína de 323 kDa está altamente conservada a lo largo de su evolución en todo el linaje de *T. cruzi*, pero carece de ortólogos en otros parásitos kinetoplastidos. Debido a las limitaciones experimentales para obtener el antígeno de longitud completa se hizo la predicción, mediante el servidor web RaptorX, de seis dominios estructurales (D1-D6) que se expresaron en células *E. coli* BL21(DE3) Rosetta. Paralelamente, utilizando el programa BepiPred 2.0, se determinó que en D4 y D6 se encontraban la mayoría de las secuencias antigénicas. Por lo tanto, posterior a la optimización del ELISA indirecto, evaluamos el rendimiento de estos antígenos en la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* utilizando el plasma de donantes con EChc e individuos no infectados. Los parámetros de rendimiento (AUC, sensibilidad, especificidad, precisión e índice J) mostraron una alta precisión diagnóstica para ambos antígenos sugiriendo que ambas proteínas tienen una elevada capacidad de discriminación entre muestras seropositivas y seronegativas. Además, se utilizó un total de 38 plasmas adicionales para probar la reactividad cruzada con enfermedades no

relacionadas. Las tasas de reactividad cruzada fueron muy bajas incluso para *Leishmania spp.* Por lo tanto, nuestro hallazgo permite posicionar a Tc323 como un prometedor candidato inmunodiagnóstico de la EChc.

## DT-091

### Efecto sinérgico de clomipramina y anfotericina sobre promastigotes de *Leishmania amazonensis*.

Camila, C.N. Barrionuevo<sup>1</sup>, Jessica A. Dimmer<sup>1,2</sup>, Tomas Tempesti<sup>3</sup>, Walter Rivarola<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Médicas-UNC, Cordoba, Argentina.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Villa María, Villa María, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones de Físico-Química (INFIQC)-FCQ, UNC., Cordoba, Argentina

La búsqueda de nuevas terapias involucra el uso de combinación de fármacos (F) efectivos para afecciones de similar biología patógeno-huésped y con blancos moleculares presentes en el parásito, pero ausentes en el huésped, como la tripanotona reductasa en parásitos del género *Leishmania*. Un F inhibidor de esta enzima es la clomipramina (Clo), empleado por su acción antidepressiva. Las formulaciones comerciales de los F traen excipientes asociados, que pueden ser eliminados mediante métodos sencillos y lograr así su purificación. El objetivo de este trabajo se centró en analizar la terapia combinada “in vitro” de Anfotericina-B (Anf) y Clo purificada sobre promastigotes de *L. amazonensis*.

Se realizó la purificación de Clo teniendo en cuenta su alta solubilidad en diclorometano. Se incubaron  $3 \times 10^6$  promastigotes/mL con concentraciones de los F solos y combinados (Anf=0,02-0,62  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y Clo=0,48-15,6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Luego de 72 h, se realizó el recuento de parásitos y se extendió la concentración inhibitoria del 50% (CI50) y el Índice de Combinación (IC: IC>1 antagónico; IC=1 aditivo; IC<1 sinérgico). Asimismo, se realizó el isoblograma correspondiente a los valores de CI50 de cada uno de los F y de sus combinaciones.

Los valores de CI50 de cada F fueron: Anf=0,28  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y Clo=1,27  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , siendo significativamente menores que la concentración citotóxica en Células Vero. De las concentraciones estudiadas, la combinación de Clo con 0,02 (CI50=1,11  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ); 0,04 (CI50=0,80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y 0,08 (CI50=0,78  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de Anf se ubicaron por debajo de la línea de aditividad, evidenciando un efecto sinérgico. Estos datos fueron coincidentes con los valores de IC obtenidos para cada concentración respectivamente: 0,95; 0,78 y 0,89.

La utilización del F purificado mejoró el efecto antiparasitario logrando reducir la concentración de Clo. El efecto sinérgico observado es coincidente con los resultados encontrados en estudios previos en *Trypanosoma cruzi* y *L. braziliensis*.

## DT-098

### Evaluación parasiticida de 1H-1,2,3-triazoles y chalconas heteroaromáticas sobre *Trypanosoma cruzi*.

Mario De-Juan-Alberdi<sup>1</sup>, William Gonzalez-Castillo<sup>2</sup>, Natalia Senskower<sup>2</sup>, Keeyna Urbano<sup>2</sup>, Patricia B Petray<sup>2</sup>, María Concepción Pérez-Melero<sup>1</sup>, Fernanda M Frank<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Sección Química Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Salamanca, Spain. <sup>2</sup>IMPAM (UBA-CONICET), Caba, Argentina

Para el tratamiento de la enfermedad de Chagas se cuenta únicamente con dos fármacos: nifurtimox y benznidazol, que fueron desarrollados en la década del '70. Estas drogas son efectivas solamente durante la etapa aguda de la enfermedad y son poco toleradas por sus severos efectos adversos. En nuestro laboratorio se ha llevado a cabo la síntesis de dos familias de compuestos orgánicos: 1H-1,2,3-triazoles trisustituidos y sus correspondientes chalconas heteroaromáticas precursoras. Los triazoles han sido diseñados para unirse al sitio L5 de la

proteína Eg5, una kinesina mitótica implicada en la formación del huso mitótico bipolar (DOI: 10.1038/nrc3310). Se estima, por tanto, que estos triazoles tengan una acción antiproliferativa. Por otro lado, las chalconas son compuestos orgánicos que tienen descritas diversas actividades biológicas, entre las que se encuentra la acción antiparasitaria (DOI: 10.1021/acs.chemrev.7b00020).

En este trabajo hemos comenzado a explorar el potencial tripanocida de los triazoles y las chalconas sobre epimastigotes de *T. cruzi* de la cepa RA por 72 h. Los 24 compuestos testeado fueron capaces de inhibir la proliferación parasitaria con  $IC_{50}$  entre 2,6 y 82,1  $\mu$ M. Siendo los más activos los compuestos 4, 8, 15, 19, 23 los cuales mostraron  $IC_{50} \leq 10 \mu$ M, seguidos por los compuestos 7, 11, 24, 12, 10, 3, 9, 22, 21 los cuales mostraron  $IC_{50}$ s entre 10 y 20  $\mu$ M.

Los compuestos fueron ensayados también sobre células Vero infectadas con parásitos de la cepa Tulahuen expresando  $\beta$ -galactosidasa. Luego de 5 días se ha empleado CPRG como sustrato de dicha enzima como método indirecto de evaluación de la actividad anti amastigote. Encontramos compuestos con  $IC_{50}$  menores a 2  $\mu$ M.

Estos resultados promisorios nos alientan a seguir evaluando estos 1*H*-1,2,3-triazoles y chalconas heteroaromáticas con potencial parasiticida.