



Parasitus
Revista de la Sociedad
Argentina de Protozoología

Vol. 2 (2023) - ISSN 2953-5751

SECRETARIOS DE REDACCIÓN

Laura Fraccaroli

Catalina Alba Soto

COMITÉ EDITOR

Catalina Alba Soto

Valeria Tekiel

Silvia A. Longhi

Patricia Romano

Cristina Vanrell

Laura Fraccaroli

Juan Burgos

Patricia Bustos

2

Sede de la Sociedad Argentina de Protozoología



Vuelta de Obligado 2490

C1428ADN – CABA, Argentina

e-mail de contacto: secretaria-sap@protozoologia.org.ar

Foto de Portada

Trichomonas vaginalis (azul) conectadas por citonemas (naranja) observados por microscopía electrónica de barrido.

Créditos: Nehuen Salas (INTECH, CONICET-UNSAM, Argentina), Antonio Pereira Neves (Instituto Aggeu Magalhães, Brasil) y Natalia De Miguel (INTECH, CONICET-UNSAM, Argentina).

XXXIV REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE PROTOZOLOGÍA

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidenta	María Corvi
Miembros	Verónica Cóceres Natalia De Miguel Lucrecia Iriarte Cristian Martinez Daniela Muñoz Sheila Ons Agustina Prat

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente	Sergio Angel
Miembros	Fernan Agüero Luisa Berná Andra Cumino Paula Marcotegui Dadín Moore Juan Mucci Silvia Repetto Lorena Zonta

COMISIÓN DIRECTIVA

Presidenta	Catalina Alba Soto
Vice-Presidenta	Patricia Romano
Secretaria	Valeria Tekiel
Pro-Secretaria	Cristina Vanrell
Tesorera	Silvia Longhi
Pro-Tesorera	Laura Fraccaroli
Vocales	Juan Burgos Patricia Bustos

AUSPICIOS



**UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA**

Universidad Nacional de La Plata



Agencia I+D+i

**Agencia Nacional de Promoción
de la Investigación, el Desarrollo
Tecnológico y la Innovación**

CONICET



**Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y
Tecnológicas**



The Company of Biologists



Mundo Sano



**COMISIÓN DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS**

**Comisión de Investigaciones
Científicas**

ÍNDICE GENERAL

Programa Científico	6
Conferencias	12
Simposios	17
Simposio I – Parásitos de interés en salud animal	18
Simposio II – Biología celular	20
Simposio III – Microparásitos en animales silvestres	23
Simposio IV – Biología molecular y bioquímica	25
Simposio V – Desarrollo de drogas antiparasitarias	28
Simposio VI – Abordajes bioinformáticos para el análisis de protozoos parásitos	30
Simposio VII – Vacunas y diagnóstico	32
Simposio VIII – Interacción parásito – célula hospedadora	34
Simposio IX – Epidemiología y vectores	37
Simposio X - Inmunología	39
Talleres	42
Comunicaciones Orales	44
Pósters	59
BMC – Biología molecular y celular	60
IPH – Interacción parásito-hospedero	85
IyV – Inmunología y vacunas	86
DyT – Diagnóstico y tratamiento	92
EyV – Epidemiología y vectores	109
PSA – Parasitología, sociedad y ambiente	113

PROGRAMA CIENTÍFICO

CONFERENCIAS

CONFERENCIA INAUGURAL

Dr. Gustavo Arrizabalaga, Indiana University, School of Medicine, EEUU

"Mitochondrial morphodynamics and inheritance in Toxoplasma gondii"

Coordinadora: Dra. María Corvi

CONFERENCIA DE CIERRE

Dra. Pilar Aoki, CIBICI-CONICET, FCQ, UNC, Córdoba, Argentina

"Respuesta immune a la infección por Trypanosoma cruzi: pactar para sobrevivir"

Coordinador: Dr. Juan Mucci

CONFERENCIA I

Dra. Graciela Navone, CEPAVE, La Plata, Buenos Aires, Argentina

"Enteroparasitosis en poblaciones infanto-juveniles de Argentina: el camino menos transitado más allá de lo convencional"

Coordinadora: Dra. Silvia Repetto

CONFERENCIA II

Dr. Fernán Agüero, IIBIO, UNSAM-CONICET, San Martín, Buenos Aires, Argentina

"An Atlas of Antigens and Epitopes for Chagas Disease: a rich source of markers for diagnostics and monitoring of treatments"

Coordinador: Dr. Carlos Robello

SIMPOSIOS

SIMPÓSIO I: Parásitos de interés en Salud Animal

Coordinadores: Dr. Dadín Moore y Dra. Lais Pardini

Dra. Lucia Campero, INTA-Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

"Neosporosis en rumiantes en Argentina"

Dr. Luis Fernando Pita Gondim, Universidade Federal da Bahia, Salvador de Bahia, Brasil.

"Bovine models of Neospora caninum infection towards assessment of vaccines for neosporosis"

Dra. Verónica Coceres, INTECH-UNSAM-CONICET, Chascomús, Buenos Aires, Argentina.

"Análisis del ciclo de vida de Tritrichomonas foetus en bovinos"

COMUNICACIONES ORALES

Judith Bentancourt Rossoli, IIPROSAM-CONICET, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

"Evidencia serológica de Neospora caninum y Toxoplasma gondii en roedores silvestres y sinantrópicos de sistemas productivos bovinos lecheros del sudeste de Buenos Aires"

Andrés Cabrera, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.

“Explorando múltiples estrategias de protección contra la infección de Neospora caninum en un modelo murino”

SIMPOSIO II: Biología Celular

Coordinadores: Dra. Laura Vanagas y Dr. Guillermo Alonso

Dra. Andrea Ropolo, INIMEC-CONICET, UNC, Córdoba, Argentina.

“Modificaciones postraduccionales de proteínas durante el proceso de enquistamiento en el parásito Giardia lamblia”

Dra. Cora Álvarez, IQUIFIB, UBA-CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Modulación de la señalización purinérgica de glóbulos rojos infectados por Plasmodium falciparum debido a incubación con vesículas extracelulares”

Dr. Uriel Koziol, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

“Efectos del albendazol sobre los microtúbulos y la renovación de proteínas en el tegumento de cestodos”

COMUNICACIONES ORALES

Daniela Muñoz, INTECH-UNSAM-CONICET, Chascomús, Buenos Aires, Argentina.

“Cambios en la metilación del ADN y expresión génica durante el proceso de interacción Trichomonas vaginalis : hospedador”

Eliezer Cruz, IIBIO-UNSAM, San Martín, Buenos Aires, Argentina.

“An unconventional RNA-binding protein defines de mRNA-fate of the major variant surface antigen in Trypanosoma brucei”

7

SIMPOSIO III: Microparásitos en animales silvestres

Coordinadoras: Dra. Lorena Zonta y Dra. Andrea Dellarupe

Dra. Delfina Cantatore, IIMYC, UNMdP, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

“Myxozoa (Cnidaria): buscando la identidad”

Dr. Juan Unzaga, Facultad de Veterinaria, UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

“Toxoplasmosis y cryptosporidiosis como modelo de estudio en la interfaz doméstico-silvestre-humano”

Dra. Paula Marcotegui, IIMYC, UNMdP, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

“Trichodinidae: mandalas naturales”

COMUNICACIONES ORALES

Lorena Martinez, IIPROSAM, CONICET-UNMdP, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

“Microparásitos en el caracol manzana, Pomacea canaliculata (Ampullaridae) en el sudeste de la provincia de Buenos Aires”

Ana Gozzi, INEDES, Luján, Buenos Aires, Argentina.

“Presencia de Cryptosporidium s pen la fauna silvestre y peridoméstica de un establecimiento lechero del partido de Luján (Buenos Aires)”

SIMPOSIO IV: Biología molecular y bioquímica

Coordinadoras: Dra. Natalia De Miguel y Dra. Luisa Berná

Dr. Guillermo Alonso, INGEBI, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Imbalance of TbVps32 affects vesicular trafficking and cell cycle progression in procyclic forms of T. brucei”

Dra. Laura Vanagas, INTECH-UNSAM-CONICET, Chascomús, Buenos Aires, Argentina.

“Regulación epigenética en Toxoplasma gondii: papel del nucleosoma doble variante H2A.Z/H2B.Z”

Dr. Javier De Gaudenzi, IIBIO, UNSAM, San Martín, Buenos Aires, Argentina.

“Regulación de la proteína de unión al RNA TcUBP1 y su impacto en el perfil transcriptómico de Trypanosoma cruzi”

COMUNICACIONES ORALES

Florencia Díaz-Viraqué, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.

“Organización tridimensional de la cromatina en Trypanosoma cruzi”

Victoria Boselli, IBR-CONICET, Rosario, Santa Fe, Argentina.

“El papel central de TcBDF6 en la infectividad y desarrollo de amastigotes en Trypanosoma cruzi”

8

SIMPOSIO V: Desarrollo de drogas antiparasitarias

Coordinadores: Dra. Andrea Cumino y Dr. Alan Talevi

Dr. Claudio Salomon, IQUIR-CONICET, UNR, Rosario, Santa Fe, Argentina.

“Parasitosis regionales: el desafío de nuevas formulaciones farmacéuticas”

Dr. Ricardo Miguel Biondi, IBioBA-CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Biología química para comprender mecanismos moleculares y sentar bases para el descubrimiento temprano de fármacos”

COMUNICACIONES ORALES

Ana Saldarriaga Cartagena, INTECH-UNSAM-CONICET, Chascomús, Buenos Aires, Argentina.

“RAD51, proteína clave en la reparación del daño al ADN, estaría involucrada en el ciclo celular de T. gondii”

Andrés Grecco, IMPaM-UBA-CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Estudio funcional del microRNA miR-71 en parásitos cestodos modelo”

SIMPOSIO VI: Abordaje bioinformático para el análisis de protozoos parásitos

Coordinadores: Dra. Fernán Agüero y Dra. Josefina Ocampo

Dra. Luisa Berná, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.
“Explorando la plasticidad, arquitectura y dinámica evolutiva del genoma de Trypanosoma cruzi”

Dr. Pablo Smircich, IIBCE, Montevideo, Uruguay.
“Estrategias bioinformáticas para la anotación funcional de genes en tripanosomátidos”

COMUNICACIONES ORALES

Andrés Alonso, INTECH-UNSAM-CONICET, Chascomús, Buenos Aires, Argentina.
“Descripción de nuevos ARN no codificantes largos para el parásito Toxoplasma gondii”

Magali Valenzano, IABIMO INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.
“Identificación de epítopes T de Babesia bovis mediante estrategias inmunoinformáticas”

SIMPOSIO VII: Interacción parásito – célula hospedadora

Coordinadores: Dr. Esteban Serra y Dra. Carolina Poncini

Dr. Marcelo Ramirez, Carlos Chagas Institute, Fiocruz – PR, Curitiba, Brasil.
“Involvement of extracellular vesicles in the tropism and persistence of T. cruzi during host infection in the chronic phase of Chagas disease”

Dra. María Laura Chiribao, CEINBIO, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
“Respuesta a estrés en Trypanosoma cruzi: función de la triparredoxina peroxidasa mitocondrial”

9

Dra. Hellen Daghero, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.
“Investigating host-pathogen interaction in Chagas disease with a colon-derived organoid model”

COMUNICACIONES ORALES

Mariana Bernstein, LAINPA, La Plata, Buenos Aires, Argentina.
“Comportamiento in vitro del aislamiento no clonal TgHm 12-1Arg de Toxoplasma gondii en células epiteliales (VERO) y trofoblásticas humanas (JEG-3)”

Maximiliano Cosenza, IIBIO, UNSAM, San Martín, Buenos Aires, Argentina.
“Los patrones de motilidad de tripomastigotes de Trypanosoma cruzi se relacionan con la virulencia de distintas poblaciones parasitarias”

SIMPOSIO VIII: Diagnóstico de infecciones parasitarias

Coordinadoras: Dra. Lucia Campero y Dra. Nazarena Pujato

Dra. Andrea Servián, INP “Dr. Mario Fatała Chabén”, CABA, Buenos Aires, Argentina.
“Explorando herramientas moleculares para el diagnóstico diferencial de infecciones por parásitos intestinales: su aplicación en estudios de prevalencia”

Dr. Leonhard Schnittger, IPVet INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

“Desarrollo y aplicación de diagnósticos moleculares y serológicos de piroplásmidos patógenos para el ganado”

Dr. German Messina, INQUISAL-CONICET-UNSL, San Luis, Argentina.

“Nuevos enfoques hacia la detección de parasitosis mediante inmunosensores electroquímicos y fluorescentes”

COMUNICACIONES ORALES

Valeria Montenegro, IABIMO INTA-CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Evaluación del desempeño diagnóstico de una nueva qPCR para la confirmación de casos agudos y crónicos de babesiosis bovina por B. bovis”

María Belén Arduso, LTI, FBCB-UNL, Santa Fe, Argentina.

“Comparación de los antígenos SAPA y CP4 de Trypanosoma cruzi para el diagnóstico del Chagas vertical basado en estrategias de detección de anticuerpos IgM específicos”

SIMPOSIO IX: Epidemiología y Vectores

Coordinadoras: Sheila Ons y Dra. Paula Faral-Tello

Dra. Silvana Carnevale, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Enfoque integrado para el estudio de la fasciolosis”

Dra. Romina Barrozo, IBBEA CONICET-UBA, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Reconocimiento del alimento en un insecto vector”

10

COMUNICACIONES ORALES

Mirta Liliana Mierez, CENPETROP-FM-UNNE, Corrientes, Argentina.

“Parasitosis intestinal en pacientes atendidos en el CENPETROP (Corrientes, Argentina) durante el periodo 2022-2023”

Anahí Díaz, IPE-CONICET, Salta, Argentina.

“Tipificación de Trypanosoma cruzi en muestras de sangre de pacientes con Chagas de la provincia del Chaco utilizando secuenciación profunda de la región hipervariable de los minicírculos (mHVR)”

Dinora Satragno, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

“Leishmaniasis Visceral Canina: actualización de la situación en el norte de Uruguay”

Camila Vázquez Cañás, Laboratorio de Ecoepidemiología, FCEN-UBA, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Xenointoxicación de Triatoma infestans usando a gatos domésticos como fuente alimenticia en un área rural del Chaco Argentino”

SIMPOSIO X: Inmunología

Coordinadoras: Dra. Catalina Alba Soto y Dra. Karina Gómez

Dra. Fátima Ferragut, INGEPI, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Moving forward with antigen-specific T cell response in Chagas disease: deciphering the immunopeptidome landscape in Trypanosoma cruzi infection”

Dra. Carolina Poncini, IMPaM-UBA-CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Infección por T. cruzi: estudio de la respuesta inmune y desarrollo de nuevas terapias”

Dr. Marcelo Rudzinski, Cátedra de Oftalmología, UCAMI, Posadas, Misiones, Argentina.

“¿Puede la re-exposición al Toxoplasma gondii afectar la respuesta inmune sistémica y la evolución clínica de los pacientes con toxoplasmosis ocular crónica?”

COMUNICACIONES ORALES

María Caputo, INP “Dr. Mario Fatala Chaben”, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Análisis funcional del receptor CD46 en la población de linfocitos T en muestras de pacientes con enfermedad de Chagas crónica”

Sebastián Trinitario, IMPaM-UBA-CONICET, CABA, Buenos Aires, Argentina.

“Estudio de dosis de candidato vacunal basado en adenovirus de serotipo raro para la infección por Trypanosoma cruzi”

TALLERES

TALLER Grupo ¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?

Dra. Carolina Carrillo, Asociación Civil Hablemos de Chagas, La Plata, Buenos Aires, Argentina

“Chagas y comunicación: sentidos, escenarios y estrategias en la academia y más allá...”



CONFERENCIAS

CONFERENCIA INAUGURAL

Mitochondrial morphodynamics and inheritance in *Toxoplasma gondii*

Gustavo Arrizabalaga and Rodolpho Souza

Department of Pharmacology and Toxicology, Indiana University School of Medicine, IN USA

Toxoplasma gondii divides by a unique process known as endodyogeny, in which two daughter cells form inside of a mother cell. Division of key organelles, including that of the single mitochondrion, is tightly associated with the cell cycle. Interestingly, the mitochondrion of *Toxoplasma* is the last organelle to divide and be distributed to the two daughter cells. Normally, *Toxoplasma*'s mitochondrion is distributed along the periphery of the parasite where it appears to contact the parasite's pellicle. During division, the mitochondrion separates from the pellicle, and sends branches into each of the daughter cells towards the end of daughter cell formation. The proteins and mechanisms involved in mitochondrion inheritance and division are not well characterized. Recently we showed that tethering of the mitochondrion to the pellicle is mediated by Lasso Maintenance Factor 1 (LMF1), which associates with the outer mitochondrial membrane, and IMC10, which is at the parasite's inner membrane complex (IMC). Interestingly, parasites lacking LMF1 or IMC10 do not only fail to tether the mitochondrion to the pellicle, but also show defects in organellar distribution during cell division. Consistent with this role, we observe colocalization of these two proteins early on in mitochondrial inheritance. Using a yeast two-hybrid (Y2H) screen, we identified Myosin A (MyoA) as a putative interactor of LMF1. Although MyoA is known to be located at the parasite's IMC, ultrastructure expansion microscopy (U-ExM) shows that this protein accumulates around the mitochondrion in late stages of division. Furthermore, we observed that in the absence of MyoA, the parasites lack membrane contacts between the mitochondrion and the IMC and show defective distribution to the daughter cells. Similarly, MyoA knockout parasites have a delay in mitochondrion delivery to the buds during division, indicating that this protein is involved in organellar inheritance. Consistent with the role of a myosin motor in this process, disruption of the parasite's actin network with Cytochalasin D affects mitochondrion/IMC tethering and mitochondrial inheritance. Importantly, we have shown that parasite-extracted mitochondrion vesicles interact with actin filaments. Accordingly, we are showing for the first time that actin and Myosin A are important for *Toxoplasma* mitochondrial inheritance. Current work includes characterizing other membrane associated proteins involved in mitochondrial inheritance and how MyoA affects organellar speed during mitochondrion segregation.

CONFERENCIA DE CLAUSURA

Respuesta inmune a la infección con *Trypanosoma cruzi*: pactar para sobrevivir

Maria del Pilar Aoki¹

¹CIBICI-CONICET. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina, pilar.aoki@unc.edu.ar

El *Trypanosoma cruzi* presenta un definido tropismo por el tejido cardíaco, causando luego de décadas de la primoinfección la cardiopatía chagásica. Endémica en nuestro país y en otros 20 de Latinoamérica, la infección representa un relevante problema de salud pública por la ausencia de un tratamiento eficaz. Existe consenso en que la persistencia del parásito, asociada a una inflamación crónica, es condición necesaria y suficiente para las lesiones tisulares. Sin embargo, porqué el sistema inmune falla en eliminar la infección, y limitar la inflamación no ha sido totalmente develado.

Nuestro grupo se ha enfocado en estudiar los mecanismos que se gatillan en miocardio y orquestan la respuesta a la infección en modelos murinos y la patología humana. Mediante diferentes estrategias hemos comprobado que la infección protege a la célula cardíaca de la apoptosis y regula la respuesta anti-parasitaria local previniendo una robusta inflamación y desactivando funciones efectoras. El efecto anti-apoptótico está mediado por el receptor tipo toll (TLR)-2 y a la interleuquina (IL)-6. El ambiente hipóxico e inflamatorio induce la liberación de ATP al medio extracelular (eATP). El eATP gatilla respuestas microbicidas, pero es metabolizado por las ectoenzimas CD39 y CD73 a adenosina, fuertemente inmunosupresora. Encontramos que la actividad de CD73 desactiva la respuesta inmune, evidenciando la participación del sistema purinérgico.

A los fines de proponer terapias innovadoras, desarrollamos un sistema de liberación controlada de drogas como vehículo para el Benznidazol que permitiría disminuir la dosis y la frecuencia de administración, observando una correlación entre los monocitos circulantes activados y el grado de efectividad del tratamiento.

Nuestros hallazgos aportan nuevos conocimientos sobre la biología del tejido cardíaco y la inmunopatogenia de la enfermedad. Además, postulan estrategias para la optimización de potenciales terapias con impacto sanitario y social.

CONFERENCIA I

Enteroparasitosis en poblaciones infanto-juveniles de Argentina: el camino menos transitado más allá de lo convencional

Navone G.T.¹; Zonta M.L.¹; Garraza M.²; Cociancic P.³; Falcone A.⁴; Servian A.⁵; Virgolini B.¹

¹CEPAVE-CONICET-UNLP, La Plata, Argentina; ²LINOA-FCNyM-UNLP, La Plata, Argentina; ³Dep. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología (Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, España); ⁴LAINPA-FCV-UNLP, La Plata, Argentina; ⁵INP "Dr. Mario Fatala Chaben", CABA, Argentina. Contacto: gnavone@cepave.edu.ar

Las parasitosis intestinales causadas por protozoos y helmintos constituyen infecciones comunes que pueden comprometer la salud humana. Estas infecciones son frecuentes en Argentina y afectan a millones de personas en el mundo, principalmente a la población infanto-juvenil de países en vías de desarrollo. Se transmiten a través del consumo de agua y alimentos, y por el contacto con el suelo y objetos contaminados con las formas parasitarias infectantes. Las enteroparasitosis se ven favorecidas por las condiciones socioeconómicas de vulnerabilidad, hábitos higiénicos inadecuados y el acceso limitado a la educación y la salud. También los factores ambientales, como la temperatura, precipitación y tipos de suelo juegan un rol importante en la transmisión parasitaria al afectar directamente la supervivencia y dispersión de las formas infectantes. Las investigaciones del grupo de Parasitología Humana del CEPAVE se desarrollan desde hace más de 20 años en poblaciones infanto-juveniles procedentes de las provincias de Buenos Aires, Chubut, Entre Ríos, Formosa, Mendoza, Misiones y Salta, seleccionadas como representantes de la variabilidad ambiental y socioeconómica del país. En este contexto, fue esencial aplicar técnicas coprológicas y moleculares para identificar y comprender la dinámica de estas infecciones, considerando las particularidades de cada población. A lo largo de esta investigación, se ha identificado un perfil parasitológico que responde a las peculiaridades de cada región. En general, se observó que una mayor vulnerabilidad en términos de las variables consideradas se asoció con una mayor prevalencia parasitaria. El bajo nivel de instrucción formal de los adultos de la familia y la falta de servicios públicos fueron más frecuentes en los hogares con niños parasitados. La continuidad de estas investigaciones permitirá aumentar las referencias geográficas y avanzar en las propuestas de mitigación de esta problemática olvidada en la Argentina y otros países de la región.

CONFERENCIA II

An Atlas of Antigens and Epitopes for Chagas Disease: a rich source of markers for diagnostics and monitoring of treatments

Fernán Agüero^{1,2}

¹ Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, CONICET, San Martín, Argentina

² Escuela de Bio y Nanotecnologías, UNSAM, San Martín, Argentina

As a response to an infection the immune system produces specific antibodies. Over the lifetime of an individual, this repertoire of antibodies becomes specific to the history of infections and represents a rich source of diagnostic markers. However, the specificities of these antibodies in Chagas disease were mostly unknown. Using high-density peptide arrays we examined the human antibody repertoires of Chagas disease patients thanks to a multiplexed screening array design containing ~2.8 million unique peptides derived from the complete proteomes of *Trypanosoma cruzi* strains CL-Brener (hybrid DTU TcVI; 19,668 proteins) and Sylvio X10 (DTU TcI, 10,832 proteins). The full length of all 30,500 proteins encoded in these genomes were scanned using 16mer peptides with an overlap of 12 residues between each peptide. With this platform, we screened sera pools from Chagas-positive and healthy volunteers from several regions across America: Argentina, Brazil, Colombia, Mexico and the United States. Screening of negative sera pools from healthy subjects allowed us to define a background baseline of antibody-binding signal against peptides, as well as to identify cross-reactive epitopes. Screening of Chagas-positive sera pools allowed us to identify specific antibody-binding against *T. cruzi* peptides. Using a conservative signal threshold to define antigenic peaks in proteins, our analysis led to the discovery of 3,858 non-redundant antigenic regions. A comparative analysis of antibody-binding in different samples allowed us to define a core set of pan-Chagas antigens and epitopes with shared reactivity across patients, as well as sets of unique/differential antigens (with more restricted reactivity). We have also characterized 232 epitopes by single-residue mutational scanning, which revealed the core epitope residues required for antibody-binding. We are now using this Atlas to investigate the dynamics of these antibody repertoires in patients undergoing chemotherapeutic treatments. In collaboration with DNDi we have analyzed the reactivity over time of 392,299 peptides for 36 patients in the E1224 (fos-ravuconazole) clinical study. Analysis of these data is underway, but we have already identified two main antibody compartments with defined dynamic characteristics. In this presentation we will present the Chagas Antigen and Epitope Atlas and will highlight its impact in the development of new diagnostics and in unraveling the dynamics of the Chagas adaptive immune responses.

16

Reference: Nat Commun 14, 1850 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37522-9>.



SIMPOSIOS

SIMPOSIO I: Parásitos de interés en Salud Animal

Neosporosis en rumiantes en Argentina

Lucía M. Campero¹

¹IPADS Balcarce-INTA-CONICET. Balcarce, Buenos Aires.

Neospora caninum impacta en el sector ganadero debido a las pérdidas asociadas al aborto. La detección molecular y serológica de *N. caninum* en fetos indica transmisión congénita, no necesariamente asociada al aborto. Estos hallazgos deben evaluarse con la presencia de lesiones compatibles que expliquen la relación causa-efecto.

El vacuno es un hospedador por excelencia donde el parásito se transmite de la madre a la cría con facilidad, resultando en aborto o nacimiento de crías congénitamente infectadas. En el último tercio de gestación, se detectó parasitemia asociada a elevados niveles de anticuerpos en vacas crónicamente infectadas, fenómeno que indicaría recrudescencia parasitaria. Además, hemos registrado niveles superiores de seropositividad en madres y crías (precalostro) con transmisiones congénitas exitosas (88,2%, 15/17) respecto a madres seropositivas que no transmitieron la infección (11,8%, 2/17). Según la casuística del Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (INTA Balcarce), de 1163 fetos abortados, neosporosis fue la primera causa de aborto de origen infeccioso en vacunos lecheros (17,3 %) y la segunda en vacunos para carne (7%). En búfalos de agua del NEA Argentino, se hallaron seroprevalencias elevadas (42-64%) y crecientes con la edad, indicando transmisión horizontal. Sin embargo, los abortos por *N. caninum* en búfalos no son frecuentes, sugiriendo una mayor resistencia respecto al vacuno a pesar de tener mayores seroprevalencias. El ovino también es hospedador natural de *N. caninum*, y hasta hace poco tiempo, la enfermedad no era considerada relevante en ovejas. Sin embargo, datos locales indican la presencia del parásito en 21% de fetos ovinos (13/63), y como causante de aborto en 62%. Estas cifras justifican mayores estudios en ovinos y su inclusión en el diagnóstico diferencial del aborto. El escenario es aún más incierto para caprinos, donde se detectaron prevalencias variables según el tipo de explotación, siendo mayores en sistemas intensivos lecheros (8,8%). Son pocos los análisis de *N. caninum* en abortos caprinos. Localmente, hay un reporte serológico en 8% de fetos evaluados (2/25) y una detección por inmunohistoquímica y lesiones compatibles, pudiéndose caracterizar por microsatélites un perfil genético en un feto caprino, sugiriendo la participación de *N. caninum* como causante del aborto.

La casuística de *N. caninum* como agente causal del aborto depende de un diagnóstico certero (baja sensibilidad *per se*) y de la remisión de muestras. En Argentina, la producción ovina y caprina se restringe a la agricultura familiar, mientras que la bubalina está concentrada en zonas de limitado acceso. Por ello, las cifras indicadas no necesariamente reflejan el impacto real de *N. caninum* en este tipo de producciones. Ante la ausencia de un tratamiento específico, una vacuna a nivel mundial y localmente de kits diagnósticos comerciales para rumiantes, es necesario continuar investigando para adecuar el control de la enfermedad.

Bovine models of *Neospora caninum* infection towards assessment of vaccines for neosporosis

Luís F. Pita Gondim¹

¹Departamento de Anatomia, Patologia e Clínicas Veterinárias, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal Bahia, Salvador, Bahia, Brazil.

Neosporosis is a major cause of bovine abortion and neonatal alterations in cattle worldwide. *Neospora caninum*, a protozoan parasite closely related to *Toxoplasma gondii*, is the causative agent

of the disease. Domestic dogs are definitive hosts (DH) of *N. caninum* and shed the resistant form (oocyst) of the parasite in their feces after ingestion of encysted bradyzoites in tissues of intermediate hosts (IH), such as cattle. Other canids of the genus *Canis* also serve as DH of the parasite, however, they do not inhabit South America. Cattle become infected after ingestion of sporulated oocysts (horizontal transmission) or by transplacental infection (vertical transmission). Up to date, no commercial vaccine is available for bovine neosporosis. Great progress has been achieved for the development of vaccine candidates, which have been mostly tested in mice. A bovine model is needed for evaluation of neosporosis vaccines. In the majority of studies, experimental infection in cattle have been performed by intravenous injection of in vitro generated tachyzoites of the parasite. In only three studies, cows were orally inoculated with *N. caninum* oocysts, what seems to mimic a natural route of infection. Herein we discuss the outcomes of experimental infection of cows using tachyzoites versus experimental infection with oocysts of the parasite. Other body sites of parasite inoculation in cattle are also commented, such as the subcutaneous route.

Análisis del ciclo de vida de *Tritrichomonas foetus* en bovinos

Martínez Cristian¹, Iriarte Lucrecia¹, de Miguel Natalia¹, Cóceres Verónica¹.

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH); Escuela de Bio y nanotecnologías (EByN), UNSAM-CONICET. Bs As, Argentina. Email: coceres@intech.gov.ar

Tritrichomonas foetus es el agente etiológico de la tritrichomonosis bovina, enfermedad venérea de impacto reproductivo ampliamente distribuida a nivel mundial. *T. foetus* es un protozooario flagelado que posee un único estadio infectivo (trofozoíto); el cual en condiciones externas desfavorables internaliza los flagelos formando estructuras denominadas pseudoquistes, cuyo rol en el ciclo de vida de este parásito es aún desconocido.

Teniendo en cuenta que los trichomonadidos son frecuentes simbioses o parásitos del tracto gastrointestinal en la mayoría de las especies hospedadoras, que en felinos *T. foetus* utiliza la vía de transmisión oral-fecal y provoca gastroenteritis, y considerando además la particularidad de que existen trichomonadidos simbioses gastrointestinales que son capaces de contaminar la vagina bovina por vía descendente a través de las heces; nos propusimos analizar si *T. foetus* era capaz de utilizar la ruta de infección oral-fecal-genital como parte de su ciclo de vida en bovinos. En este contexto, realizamos una infección experimental administrando *T. foetus* por vía oral a hembras bovinas y demostramos mediante diferentes técnicas la presencia de trofozoítos/pseudoquistes en las heces y en el tracto reproductor de las hembras tratadas. Luego demostramos la capacidad de supervivencia de este parásito en heces, en agua y en diferentes condiciones de pH; y finalmente determinamos la presencia de estos protozoarios en heces de animales infectados naturalmente. En resumen, pudimos observar que *T. foetus* es capaz de sobrevivir en el tracto digestivo del rumiante, eliminarse a través de las heces y contaminar la vagina de las hembras bovinas; así como también es capaz de mantenerse viable en agua y heces durante un determinado período formando estructuras de resistencia (pseudoquistes/quistes).

SIMPOSIO II: Biología Celular

Modificaciones postraduccionales de proteínas durante el proceso de enquistamiento en el parásito *Giardia lamblia*.

Andrea Rópolo¹, Luciano Díaz-Pérez¹, Rocío Patolsky¹

¹Instituto M y M Ferreyra. INIMEC-CONICET. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Dentro de los mecanismos epigenéticos que regulan la transcripción génica, las modificaciones postraduccionales de histonas se ubican entre los más estudiados. Ellos le otorgan a la fisiología celular un amplio rango de posibilidades de adaptación al medio externo, de manera flexible y rápida. En el parásito protozoario *Giardia lamblia*, estas modificaciones han comenzado a ser estudiadas durante los últimos años, analizando, por un lado, las enzimas modificadoras de histonas y, por el otro, describiendo algunas de las modificaciones postraduccionales en las mismas.

En nuestro laboratorio, hemos analizado la importancia de la deiminación, la sumoilación y, recientemente, la metilación de proteínas durante la diferenciación del parásito desde la forma de trofozoito hasta el estadio de quiste. El interés de enfocar nuestros estudios en el enquistamiento del parásito se basa en que, a pesar de que este proceso se puede estudiar *in vitro* y de que se han producido importantes avances en su análisis, hasta el momento, no se ha podido completar la ruta de señalización, no se conocen completamente las moléculas involucradas, ni se han descrito cuáles son los factores determinantes para la producción de las proteínas específicas del enquistamiento. Con respecto a la metilación de proteínas, hemos observado que la enzima lisina metiltransferasa 1 (GIKMT1) actúa durante las primeras horas del enquistamiento, regulando positivamente este proceso. Recientemente, hemos descrito la función de la enzima lisina metiltransferasa 2 (GIKMT2), observando que regula de forma negativa este proceso. De forma complementaria, hemos estudiado la localización de marcas de metilación y acetilación en residuos lisina de la histona H3. Observamos que durante el enquistamiento hay cambios en la intensidad de las marcas en los núcleos, y que a su vez hay re-localización de alguna de esas marcas hacia la periferia de las células. A partir de estos resultados surge un nuevo interrogante relacionado con el destino final de las histonas durante el proceso de enquistamiento, que va desde la desaparición de algunas marcas hasta su localización probablemente en vacuolas periféricas endolisosomales o posiblemente en exosomas. Nuestros resultados contribuyen a hallazgos previos que correlacionan la metilación y acetilación de histonas como eventos cruciales durante la diferenciación de *Giardia lamblia*.

20

Modulación de la señalización purinérgica de glóbulos rojos infectados por *Plasmodium falciparum* debido a incubación con vesículas extracelulares

Alvarez, Cora Lilia; Schachter, Julieta; Safiotti, Nicolás; Leal Denis, María Florencia; Schwarzbaum, Pablo J.

IQUIFIB (UBA-CONICET). Laboratorio de Metabolismo de Nucleótidos Extracelulares. CABA, Argentina.

En los últimos años nuestro grupo de trabajo se ha especializado en estudiar, en distintos tipos celulares, la liberación de ATP y otros nucleótidos al medio extracelular, la interacción de esos metabolitos con receptores purinérgicos presentes en la membrana celular y con ectonucleotidasas. Tomando como modelo el glóbulo rojo humano (GR), la caracterización de los componentes que regulan la homeostasis del ATP extracelular (ATPe) y sus efectos sobre la fisiología celular incluyó el análisis de GR infectados con *P. falciparum* (GRi).

Analizamos si la infección parasitaria es capaz de afectar la homeostasis del ATPe en los distintos estadios intraeritrocíticos. Demostramos que durante la infección existe mayor salida de ATP a pesar

de la elevada producción de óxido nítrico, un metabolito que interviene en la vasodilatación al actuar sobre la célula endotelial y que inhibe la liberación del nucleótido. El aumento de la [ATP] en el medio también fue parcialmente compensado por un aumento de la actividad ectoATPasa por ectonucleotidasas (Alvarez y col., 2014).

Luego nos propusimos estudiar los GR no infectados (GRni) pero presentes en el medio de cultivo con *P. falciparum*. Los estudios con este grupo de células son relevantes porque usualmente en pacientes que transitan la enfermedad sin complicaciones las parasitemias son bajas, por lo que los GRni representan la población mayoritaria de GR en estas condiciones. Observamos que GRni bajo estimulación adrenérgica, exhiben una aumentada capacidad de liberar ATP y mayor actividad ectoATPasa, independientemente del contacto físico entre GRi y GRni (Alvarez y col., 2022). Estos cambios podrían explicarse por la liberación de algún factor soluble o vesícula, generados por los GRi, que promueva cambios metabólicos o estructurales en el GRni. Se conoce que la infección por *P. falciparum* se caracteriza por un aumento de las vesículas extracelulares en el plasma.

Las vesículas extracelulares (VEs) derivan de la membrana celular del GR y engloban su citoplasma. Además, constituyen un modo de comunicación celular mediante la transferencia de proteínas de membrana y citosólicas, lípidos, ADN y ARN entre parásitos y entre parásitos y GR. Debido a esto, es posible que las VEs sean una vía para que los GRni desarrollen alteraciones metabólicas, a pesar de no encontrarse infectados con el parásito. Encontramos que la producción de VEs de un cultivo parasitado fue 2.4 veces mayor que la producción de un cultivo control, que contienen ATP intravesicular, y que además son capaces de hidrolizar ATP exógeno, sugiriendo la presencia de ectonucleotidasas funcionales.

Ahora, nos proponemos estudiar las modificaciones de la señalización purinérgica de GR debido a incubación con VEs provenientes del cultivo de GR infectados por *P. falciparum*, con consecuencias sobre la integridad de la membrana celular, la deformabilidad y la adhesión al endotelio de los GR. Entender estos fenómenos asociados a la señalización purinérgica en malaria contribuirá a la comprensión de ésta y otras patologías que afectan el sistema vascular.

Efectos del albendazol sobre los microtúbulos y el recambio de proteínas en el tegumento de cestodos

Inés Guarnaschelli ¹, [Uriel Koziol](#) ¹

¹ Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Los cestodos son platelmintos parásitos que causan numerosas enfermedades en seres humanos y animales domésticos. Cuentan con un tegumento que recubre la totalidad de su superficie y es el único sitio de contacto parásito-hospedador. Este tejido altamente especializado tiene una organización particular: un sincitio superficial (el tegumento distal) recubre toda la superficie del parásito, y se apoya sobre una lámina basal. Los núcleos del sincitio se encuentran en cuerpos celulares (citones), que se hallan sumergidos por debajo de la lámina basal, y se conectan al sincitio mediante finos puentes citoplasmáticos. Utilizando al cestodo modelo *Mesocestoides corti*, demostramos la distribución de los microtúbulos en el tegumento mediante inmunofluorescencia, confirmando su abundancia y orientación apico-basal en el tegumento distal, y su concentración en los puentes citoplasmáticos que conectan al mismo con los citones, sugiriendo un rol en el transporte intracelular. A su vez, confirmamos que la síntesis proteica en el tegumento está restringida a los citones, por lo que las nuevas proteínas deben ser transportadas hacia el tegumento distal. En este contexto, analizamos el efecto sobre el tegumento del albendazol, una de las pocas drogas disponibles para el tratamiento de infecciones por cestodos, cuyo blanco molecular son los microtúbulos. Encontramos que el albendazol, a concentraciones terapéuticamente relevantes, causa la despolimerización de los microtúbulos del tegumento distal, la acumulación de glicoconjugados en los citones, y una reducción en la incorporación de nuevas proteínas en el tegumento distal. Estos resultados sugieren un rol central de los microtúbulos en el recambio de proteínas en el tegumento



distal, y que el tegumento podría ser un blanco celular clave para el efecto antihelmíntico del albendazol. Sorprendentemente, encontramos que el albendazol tiene además un efecto inhibitorio sobre la síntesis proteica total del parásito, y esta inhibición es independiente de la activación de la respuesta a estrés del retículo. Por lo tanto, la inhibición de la síntesis proteica (probablemente en forma indirecta) podría ser un mecanismo adicional que contribuye al efecto antihelmíntico del albendazol.

SIMPOSIO III: Microparásitos en animales silvestres

Myxozoa (Cnidaria): buscando la identidad

Cantatore Delfina¹

¹IIIMYC-CONICET-UNMDP, Mar del Plata, Argentina.

Los Myxozoa constituyen un grupo monofilético de microorganismos eucariotas, endoparásitos multicelulares obligados de una gran diversidad de hospedadores, con ciclos de vida indirectos en ambientes acuáticos. Su historia taxonómica es tan compleja como interesante desde su primer registro hace 200 años. Debido a la miniaturización y simplificación extrema de su plan corporal asociadas al parasitismo fueron considerados protozoos hasta los años 70'. Confirmada su condición de metazoos, su posición filogenética permaneció incierta dada su divergencia extrema tanto a nivel morfológico como molecular. Estudios recientes demostraron que los myxozoos son cnidarios altamente modificados representando el 20% de la diversidad específica del grupo, con más de 2600 especies nominales. Sin embargo, su diversidad permanece subestimada y poco estudiada a nivel global pero particularmente en la región neotropical. La mayoría de los myxozoos producen infecciones sin aparente patogenicidad, reflejo de procesos de co-evolución con contra-adaptaciones del parásito a la respuesta inmune del hospedador, y del hospedador a la virulencia del parásito. Sin embargo, algunas especies son altamente patógenas tanto para peces silvestres como de cultivo, provocando daños ecológicos y económicos sustanciales para la acuicultura y la industria pesquera en todo el mundo. Se prevé que temperaturas más cálidas como resultado del cambio climático, coincidan con una escalada de enfermedades emergentes causadas por myxozoos. Durante la presentación se comentará el estado actual del conocimiento de la diversidad de los Myxozoa en Argentina y se comentarán distintas técnicas, herramientas y metodologías, tradicionales y novedosas, para su estudio.

Toxoplasmosis y cryptosporidiosis como modelo de estudio en la interfaz doméstico-silvestre-humano

Unzaga Juan Manuel¹

¹LAINPA-Cát. Parasitología y Enfermedades Parasitarias-FCV-UNLP, La Plata, Argentina. junzaga@fcv.unlp.edu.ar

Desde un posicionamiento alternativo y bajo los paradigmas de Una Salud y Buen Vivir-Vivir Bien es posible trabajar formas colectivas de experiencias situadas, el aquí y ahora, que nos permitan pensar formatos propios y regionales, más allá de modelos extrapolables que poco tienen que ver con soluciones posibles, llamamos a esta forma de entender la gestión de las enfermedades "salud situada". En este marco, cobran importancia las enfermedades de la fauna silvestre debido al papel de estos animales en infecciones con impacto en la salud animal, la salud pública y la sanidad del ambiente. El entorno en el que vive la fauna silvestre ha experimentado notables cambios en los últimos años, provocados en gran medida por el hombre en su mirada antropocéntrica, promoviendo la creación de situaciones de interacción en la interfaz doméstico-silvestre-humano. Gestionar las enfermedades atendiendo a esta interfaz es la mejor manera de enfocar los recursos y alcanzar un estatus sanitario adecuado. Como ejemplo de ello, la toxoplasmosis y cryptosporidiosis son zoonosis parasitarias cuya prevalencia se acentúa bajo condiciones socioeconómicas y ambientales desfavorables que permiten su proliferación y transmisión a partir de, entre otras situaciones, la presencia de animales domésticos y silvestres que actúan como hospedadores y reservorios de estos protozoos. En nuestro país, se han llevado a cabo numerosos estudios que involucran el relevamiento de tasas de infección y la puesta a punto y el desarrollo de distintas técnicas diagnósticas. En particular, en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA-FCV, UNLP)

se han realizado estudios serológicos en toxoplasmosis; y parasitológicos, de diagnóstico molecular y genotipificación a partir de muestras de animales domésticos, silvestres, seres humanos y muestras ambientales (suelo, agua y hortalizas) en ambas zoonosis, lo cual ha permitido estudiar su estructura poblacional. De esta forma, a partir de los estudios previamente mencionados llevados a cabo por el LAINPA en planes de trabajos doctorales y posdoctorales, y de los registros correspondientes al servicio de serología (<https://lainpa.fcv.unlp.edu.ar>), se cuenta con un gran volumen de información, recabado a lo largo de casi 30 años, que amerita ser analizada en forma integral, contemplando herramientas de análisis adecuadas. Específicamente en fauna silvestre se cuenta con datos provenientes de animales de zoológico, visón americano, geckos leopardo, y en forma conjunta con el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CONICET-UNLP) muestras provenientes de tortugas continentales, roedores sinantrópicos, vizcachas y armadillos. En este sentido, se considera indispensable la necesidad de conectar los aspectos humanos, animales y socioambientales disponibles para poder diseñar intervenciones integrales y efectivas, que permitan identificar los determinantes sociodemográficos y ambientales asociados a la distribución espacial de *Toxoplasma gondii* y *Cryptosporidium* spp. en nuestro país.

***Trichodinidae*: mandalas naturales**

Marcotegui, Paula¹

¹IIMYC-CONICET- UNMDP, Mar del Plata, Argentina.

Los Trichodinidae son una familia de protozoos ciliados parásitos que afectan a una amplia variedad de hospedadores acuáticos, incluyendo peces, anfibios y crustáceos. Estos microorganismos son conocidos por su forma circular y su característico disco adhesivo que utilizan para adherirse a su hospedador. El ciclo de vida de los Trichodinidae involucra varias etapas, incluyendo la adhesión a un hospedador, la reproducción por fisión binaria y la liberación de las formas infectantes. La infestación con alguna o varias de las especies miembros de esta familia puede causar problemas en los hospedadores, como irritación de la piel, daño en las branquias, disminución de la tasa de crecimiento e incluso mortalidad en casos graves. Además, la presencia de estos parásitos puede debilitar la respuesta inmunológica de los hospedadores, haciéndolos más susceptibles a otras enfermedades. Dado que las infestaciones por Trichodinidae pueden tener impactos económicos significativos en la acuicultura y la cría de animales acuáticos, comprender mejor su biología, ecología y modos de transmisión es esencial para el desarrollo de medidas eficaces de prevención y control. Durante la exposición se desarrollará el estado actual del conocimiento en nuestro país y en el mundo, el avance en las técnicas y los desafíos para su estudio.

SIMPOSIO IV: Biología Molecular y Bioquímica

Imbalance of TbVps32 affects vesicular trafficking and cell cycle progression in procyclic forms of *T. brucei*

Nadia M. Barrera, Cecilia M. Martínez, Alejandra C. Schoijet, and [Guillermo D. Alonso](#)

INGEBI-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Trypanosoma brucei is a eukaryotic parasite transmitted by tsetse flies that causes African trypanosomiasis, a devastating disease also known as sleeping sickness in humans, and Nagana in cattle. During its life cycle, this parasite alternates between the mammalian bloodstream forms and procyclic forms present in the insect vector, requiring specific adaptation to maintain homeostasis during this alternation. These adaptive mechanisms require the detection of extracellular signals and are facilitated by membrane trafficking. In this sense, *T. brucei* and other kinetoplastids have rewired components of the canonical endo-lysosomal machinery and have adapted processes such as endocytosis, exocytosis, and autophagy for efficient life cycle progression. The multivesicular bodies (MVB) are specialized late endosomes (LE) that function in targeting ubiquitinated cell surface proteins to the lysosome for degradation and are mainly composed of protein members of the Endosomal Sorting Complex Required for Transport (ESCRT). ESCRT is composed of four sub-complexes (0-III), with ESCRTIII being the most conserved among eukaryotic taxa. The Vps32 protein, also known as Vacuolar Sorting Protein 32, is a crucial component of the cellular machinery responsible for intracellular protein trafficking and sorting. It plays a pivotal role in maintaining the functionality and integrity of the endosomal-lysosomal system, a fundamental aspect of eukaryotic cell biology. Vps32 is the most abundant protein of ESCRT III and also has an important role in cytokinesis and vesicular trafficking as it was described in *Saccharomyces cerevisiae* and *Homo sapiens*. African trypanosomes lack a morphologically well-defined MVB but contain orthologues of the ESCRT machinery that drive a diverse collection of membrane remodeling events. In fact, in *Trypanosoma brucei*, TbVps23 (ESCRTI) and TbVps4 (the terminal ESCRT ATPase) are both localized to the late endosome and play a role in lysosomal trafficking. In our laboratory, we have identified and studied several members of the Vps-protein family in *T. cruzi* and *T. brucei*. More recently, we identified the Vps32 orthologue in *T. brucei*, named TbVps32, which is shown to be associated with endocytic compartments. Through TbVps32 downregulation and the inducible expression of a tagged version of this protein (HA-TbVps32), we addressed the role of TbVps32 in vesicular transport to the lysosome and cell cycle progression. Knockdown of TbVps32 by interference RNA and HA-TbVps32 inducible over-expression resulted in the inhibition of cell growth in both cases, highlighting the relevance of fine-tuning the balance of this protein for the proper regulation of the ESCRT complex function. Moreover, trafficking of dextran, transferrin, and DQ-BSA in the endocytic pathway was impaired. Overall, we propose that TbVps32 participates in endocytic trafficking to the lysosome and is essential for *Trypanosoma brucei* survival.

25

Regulación epigenética en *Toxoplasma gondii*: papel del nucleosoma doble variante H2A.Z/H2B.Z

[Laura Vanagas](#)

Laboratorio de Parasitología Molecular, INTECH, Chascomús, vanagas@intech.gov.ar

Las histonas son proteínas fundamentales en una amplia variedad de procesos biológicos, regulando el grado de empaquetamiento del ADN, y haciendo gala de una variedad de modificaciones post-traduccionales (PTMs, por sus siglas en inglés) que son parte de un “código de histonas” interpretado por proteínas “lectoras” que modulan la estructura de la cromatina. Entre estas

modificaciones, una de las más ampliamente distribuidas es la acetilación de lisinas, una marca habitualmente activadora de la transcripción. Por otra parte, las histonas canónicas se pueden reemplazar por variantes que le agregan otra capa de complejidad a su actividad regulatoria. Los parásitos del Phylum Apicomplexa, como *Toxoplasma gondii* son únicos entre los eucariotas al poseer una histona variante novedosa de la familia H2B, que se denominó H2B.Z, por compartir el nucleosoma con otra histona variante, la H2A.Z. Esta última es una variante de la familia H2A que se encuentra ampliamente difundida en la naturaleza, y en este Phylum conforman un nucleosoma doble variante. Las combinaciones de PTMs y el uso de histonas variantes son importantes para la regulación génica en *T. gondii*, lo cual ofrece nuevos blancos para el desarrollo de drogas más específicas. Para estudiar la función biológica de la histona H2B.Z, generamos parásitos en los cuales se mutaron las 5 lisinas de la cola N-terminal por alaninas (c-Myc-A) o por argininas (c-Myc-R). Los parásitos c-Myc-A tuvieron solo efectos leves a nivel fenotípico, más que nada en su capacidad de matar los ratones luego de la infección experimental. En cambio, los parásitos c-Myc-R mostraron marcadas diferencias con el parental, como una disminución en la tasa de crecimiento y un aumento en la tasa de diferenciación a bradizoítos. Además, los parásitos c-Myc-R resultaron más sensibles al daño al ADN, perdieron por completo la virulencia en ratones y desencadenaron una respuesta inmune protectora frente a una nueva infección. La composición del nucleosoma no resultó alterada pese a las mutaciones de la histona, sin embargo, pudimos detectar durante la diferenciación in vitro, una expresión alterada en ciertos genes clave para este proceso. También pudimos observar que esta cola N-terminal acetilada interactúa con algunas proteínas diferenciales comparada con la cola sin acetilar, mediante ensayos de pull-down, entre ellas proteínas asociadas al mantenimiento de los cromosomas y su segregación, o al ciclo celular, lo cual podría sugerir una relación entre la acetilación de esta histona y el proceso de división celular.

Regulación de la proteína de unión al RNA TcUBP1 y su impacto en el perfil transcriptómico de *Trypanosoma cruzi*

Karina B. Sabalette^{1,2}, Vanina A. Campo^{1,2}, José R. Sotelo-Silveira^{3,4}, Pablo Smircich^{4,5}, Javier G. De Gaudenzi^{1,2}

¹IIB-UNSAM - CONICET, General San Martín, Prov. de Buenos Aires, Argentina. ²EByN, UNSAM, General San Martín, Prov. de Buenos Aires, Argentina. ³Departamento de Genómica, IIBCE, Montevideo, Uruguay. ⁴Instituto de Biología, UdeLaR, Montevideo, Uruguay. ⁵Laboratorio de bionformática, Departamento de Genómica, IIBCE, Montevideo, Uruguay. E-mail: jdegaudenzi@iib.unsam.edu.ar

A lo largo de su complejo ciclo de vida, *Trypanosoma cruzi* alterna entre un hospedador mamífero y un insecto vector, por lo que debe adaptarse rápidamente a los diferentes ambientes que enfrenta. Durante este ciclo, los cambios en la expresión de la proteína reguladora TcUBP1 —del inglés *T. cruzi* *U-rich RNA-binding protein 1*— desempeñan un papel crucial. TcUBP1 es una proteína de unión al RNA exclusiva de tripanosomas que reconoce un elemento estructural característico denominado UBP1m localizado en las regiones 3'-no codificante de sus transcritos blancos. Anteriormente, hemos demostrado que la sobreexpresión ectópica de TcUBP1 en células CL Brener epimastigotes desencadena un perfil de expresión que se asemeja a las formas infectivas y duplica la infectividad de los trypomastigotes derivados de células. En un intento por generar parásitos knockout para TcUBP1 utilizando la tecnología CRISPR-Cas9, obtuvimos una variante con su extremo N-terminal mutado. La expresión de esta forma mutante de TcUBP1 se vio notablemente disminuida en comparación con la forma endógena expresada en los parásitos salvajes. Sin embargo, el análisis de microscopía mostró una morfología normal de las células epimastigotes así como la correcta localización del núcleo y el kinetoplasto. Del mismo modo, las curvas de crecimiento y la diferenciación de epimastigotes a tripomastigotes metacíclicos presentaron valores similares al control spCas9. A continuación, realizamos experimentos de RNA-seq con la población disminuida (KD), sobreexpresante (OE) y salvaje, lo que nos permitió identificar 26 genes regulados al alza y 67

genes regulados a la baja con respecto a la muestra control ($|\log_2 \text{fold change}| > 1$, $\text{FDR} < 0.05$). Luego se realizó un análisis por ontología de genes en estos grupos sobre y subexpresados. En general, el estudio de los genes que cambiaron en dirección opuesta bajo condiciones de sobreexpresión y disminución de la proteína mostró transcritos cuya regulación está gobernada por TcUBP1, principalmente mRNAs que codifican glicoproteínas de superficie de trypomastigotes y proteínas ribosomales. En resumen, los resultados obtenidos hasta aquí empleando parásitos KD contribuyen a la descripción de un perfil transcriptómico contrario al que resulta de la sobreexpresión de TcUBP1 en células epimastigotes.

SIMPOSIO V: Desarrollo de drogas antiparasitarias

Parasitosis regionales: El desafío de nuevas formulaciones farmacéuticas.

Claudio Salomon¹

¹IQUIR-CONICET. Rosario, Argentina. csalomon@fbioyf.unr.edu.ar

Las enfermedades parasitarias desatendidas afectan predominantemente a poblaciones en regiones con bajos ingresos y limitados recursos de atención médica. Estas enfermedades incluyen la malaria, la enfermedad de Chagas, la leishmaniasis, la esquistosomiasis, entre otras. El término "desatendidas" se refiere a la falta de atención e inversión en investigación y desarrollo para combatir estas enfermedades en comparación con otras enfermedades más prevalentes en las regiones desarrolladas del mundo.

El impacto económico y sanitario de las infecciones producidas por parásitos ya ha comenzado a ser apreciado y a tal fin, la OMS recomienda el tratamiento quimioterapéutico periódico sin diagnóstico individual previo para todas las personas en situación de riesgo que vivan en zonas endémicas. Dentro de los fármacos más empleados para dichas patologías se encuentran los derivados del benzimidazol: benznidazol, albendazol, mebendazol, ricobendazol, triclabendazol y un derivado de la pirazoisquinolina, el praziquantel. Una característica común a todos ellos es la extremadamente baja solubilidad en agua, influyendo directamente en sus propiedades biofarmacéuticas.

Diversas estrategias se han empleado para superar estas limitaciones tales como los complejos de inclusión con ciclodextrinas, formación de sales de IFAs ionizables, uso de cosolventes, sistemas micro y nanoestructurados, liposomas, sistemas de liberación de fármacos autoemulsionables, y dispersiones sólidas empleando polímeros hidrofílicos. Es importante destacar que la elección de la estrategia depende de la naturaleza química del fármaco y de las necesidades específicas de la formulación. Por lo tanto, se requiere un enfoque multidisciplinario para abordar con éxito el problema de la solubilidad en agua en el desarrollo farmacéutico.

28

Biología química para comprender mecanismos moleculares y sentar bases para el descubrimiento temprano de fármacos

Ricardo M. Biondi¹, Alejandro E. Leroux¹

¹IBioBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Desde hace más de dos décadas trabajamos en comprender los mecanismos moleculares de regulación en proteínas de interés en biomedicina con un abordaje de biología química. La mayor parte de nuestras energías se han dedicado a comprender los mecanismos de regulación de proteínas quinasas del grupo AGC, que están representados en todos los eucariotas, incluyendo protozoarios patógenos. Nuestro abordaje requiere trabajo en colaboración multidisciplinario incluyendo biología molecular, bioquímica, cribaje de bibliotecas de compuestos, estructura de las dianas blanco en complejo con compuestos, técnicas de biofísica, química medicinal y bioinformática. Con nuestro abordaje hemos establecido a una proteína quinasa, PDK1 como ejemplo de proteína alostérica cuya conformación puede ser modulada bi-direccionalmente por pequeñas moléculas uniéndose al sitio activo o al sitio regulatorio.

Presentaré nuestra metodología de cribaje usando la técnica de AlphaScreen y la identificación de compuestos alostéricos que se unen a un sitio regulatorio de proteínas quinasas humanas PDK1 y Aurora y activan o inhiben la actividad quinasa. Con este abordaje, haciendo blanco en sitios regulatorios, se podrá evaluar la posibilidad de desarrollos de compuestos inhibidores que sean específicos para la correspondiente proteína quinasa de un parásito.



A través de los años, nuestro trabajo sobre PDK1/AGC quinasas y nuestra plataforma colaborativa puesta al servicio de otros grupos (por ejemplo, como parte del Consorcio Alemán contra el Cáncer, DKTK) ha permitido directa e indirectamente el descubrimiento de fármacos innovadores y estudios clínicos para reposicionamiento de fármacos. A través de esta presentación nos gustaría abrir una discusión sobre la estrategia local para llevar la investigación básica dentro del ámbito de la SAP hacia el camino de descubrimiento de fármacos.

SIMPOSIO VI: Abordaje bioinformático para el análisis de protozoos parásitos

Explorando la plasticidad, arquitectura y dinámica evolutiva del genoma de *Trypanosoma cruzi*

Luisa Berná^{1,2}, Gonzalo Greif¹, Carlos Sanz¹, Florencia Díaz-Viraqué, Carlos Robello¹, Fernando Alvarez-Valin²

¹Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Genómica Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

A pesar de los notables avances tecnológicos, todavía no hemos logrado desentrañar por completo la compleja organización genómica de *Trypanosoma cruzi* ni su evolución, aunque sabemos que esto es crucial para el éxito del parásito al evadir el sistema inmunitario y generar plasticidad. En nuestro trabajo anterior, utilizando lecturas largas, proporcionamos estimaciones más precisas del tamaño del genoma, el número de copias de genes y la distribución de secuencias repetitivas. También demostramos que el genoma de *T. cruzi* está compartimentalizado en regiones con diferentes composiciones de bases, contenido génico y distribución.

En el presente estudio, nos enfocamos en la plasticidad genómica de *T. cruzi*. El compartimento "core" se caracteriza por presentar clusters direccionales de genes más largos, niveles de expresión más altos y bloques sinténicos conservados entre diferentes cepas de *T. cruzi* y otros tripanosomátidos. En contraste, el compartimento "disruptivo," compuesto por familias multigénicas, muestra unidades policistrónicas más cortas, menor expresión y una plasticidad mucho mayor.

De manera sorprendente, al analizar la tasa de evolución nucleotídica (estimada a través de sustituciones sinónimas entre genes ortólogos de dos cepas estrechamente relacionadas, Dm28c y BrazilA4), descubrimos que los genes ubicados en las regiones disruptivas no evolucionan significativamente más rápido que los genes del core. Esto sugiere que las diferencias observadas en el compartimento disruptivo no pueden atribuirse a la evolución de las secuencias nucleotídicas, sino más bien a eventos de recombinación y reordenamiento genómico.

Por lo tanto, centramos nuestra atención en examinar la presencia de reordenamientos genómicos y movimientos génicos, específicamente eventos de recombinación ectópica, que se correlacionan con la divergencia observada entre cepas y haplotipos dentro de la misma cepa.

Mediante el análisis detallado de la arquitectura de compartimentación y las características únicas de las diferentes regiones del genoma, contribuimos a una mejor comprensión de los mecanismos evolutivos que subyacen a la plasticidad que observamos.

Estrategias bioinformáticas para la anotación funcional de genes en kinetoplastidos

Pablo Smircich^{1,2}

¹Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ²Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

La anotación de la función de las proteínas es clave para comprender la biología celular a nivel molecular. Sin embargo, esto sigue siendo un desafío en la biología actual. Dado que no es factible caracterizar la gran cantidad de secuencias génicas disponibles mediante enfoques experimentales, gran parte de la información que tenemos sobre la función de las proteínas se obtiene a través de métodos computacionales.

Los métodos más ampliamente utilizados para la anotación de proteínas dependen de encontrar similitudes significativas de secuencia entre una proteína desconocida y secuencias ya presentes en una base de datos. Sin embargo, en cada genoma secuenciado, una gran proporción de los genes permanece sin ninguna anotación funcional.

Para abordar este problema, en el laboratorio nos encontramos implementado varias estrategias diferentes. Por un lado, desarrollamos DARK una herramienta de anotación y base de datos que utiliza alineamientos HMM-HMM para encontrar homólogos remotos y así mejorar la sensibilidad de la búsqueda. Esta estrategia nos permitió agregar nueva información de anotación a miles de genes previamente no anotados en kinetoplástidos. Además, estamos utilizando información de coexpresión génica para evaluar el traslado de anotación por el principio de culpable por asociación. Hasta el momento hemos trabajado en la anotación de genes “hub” del grafo. Los resultados nos alientan a ampliar el trabajo a otros genes no centrales de la red. Finalmente, estamos utilizando similitud estructural de proteínas para identificar homología remota. La aproximación ha permitido anotar ~1.500 grupos de ortólogos que todos sus miembros están clasificados como proteínas hipotéticas en kinetoplástidos.

SIMPOSIO VII: Interacción parásito - célula hospedadora

Involvement of extracellular vesicles in the tropism and persistence of *T cruzi* during host infection in the chronic phase of Chagas disease

Izadora Volpato Rossi^{1,2}, Bruna Sabatke^{1,2}, Abel Sana^{1,3}, Letícia Bonato^{1,2}, Marcel Ivan Ramirez²

¹ Graduate Program in Microbiology, Pathology and Parasitology, Federal University of Paraná, Curitiba, PR, Brazil; ² EVAHPI - Extracellular Vesicles and Host-Parasite Interactions Research Group, Carlos Chagas Institute (Fiocruz-PR), Curitiba, PR, Brazil; ³ Graduate Program in Cell and Molecular Biology, Federal University of Paraná, Curitiba, PR, Brazil. E-mail: marcel.ivan.ramirez@gmail.com

The protozoan *Trypanosoma cruzi* is the etiological agent of Chagas disease, which was initially restricted to the Americas, but has spread throughout the world. *T. cruzi* has different mechanisms to evade the immune system and invade host cells, expressing different molecules on its surface and releasing extracellular vesicles (EVs). EVs are small nanoparticles composed of a lipid bilayer, with heterogeneous and dynamic size, content and membrane composition, which comprises microvesicles and exosomes, depending on their biogenesis. Here, we characterize EVs derived from TCTs with host cells, in order to evaluate its role in modulating the immune response and its influence on the dynamics of infection and intracellular permanence of the parasite. For this, two strains with distinct genetic and virulence characteristics were used (CL Brener and Dm28c), with Dm28c being more infective and having a higher TCTs release rate from infected cells. We also showed that *T. cruzi* interacts differently with myoblast cells and intestinal epithelial cells, which could simulate the environments found by the parasite in the host. EVs derived from the interaction between *T. cruzi* and myoblast or intestinal epithelium differ in their composition and effects during infection. Furthermore, here we show initial results of the effect of EVs on *in vivo* infection. Thus, these data can contribute to the understanding of the mechanisms of virulence and persistence of the parasite, paving the way for advances in the understanding of Chagas disease.

32

Respuesta a estrés en *Trypanosoma cruzi*: función de la triparredoxina peroxidasa mitocondrial

Specker, Gabriela^{1,2}; Libisch, Gabriela³; Díaz Viraqué, Florencia³; Estrada, Damian^{1,2}; Parodi, Adriana^{3,4}; Tomasina, Ramiro³; Piñeyro, Dolores^{1,2,3}; Radi, Rafael^{2,3}; Robello Carlos^{1,2,3}; Piacenza, Lucía^{1,2}; Chiribao, Maria Laura^{1,2,3}

¹ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República. ² Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Universidad de la República ³ Laboratorio de interacciones hospedero patógeno/Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur de Montevideo. ⁴ Sección genética Facultad de Ciencias Universidad de la República

Trypanosoma cruzi, el agente etiológico de la Enfermedad de Chagas tiene un ciclo de vida complejo en el que enfrenta condiciones ambientales muy variables por ejemplo cambios de temperatura, de pH en la disponibilidad de nutrientes, presencia de oxidantes, presión del sistema inmune entre otras. La respuesta del parásito a los diferentes estresores es fundamental para asegurar la persistencia del parásito en el hospedero.

Las peroxirredoxinas son una familia ubicua de enzimas antioxidantes cuya función mejor caracterizada es la detoxificación de peróxidos. Estas enzimas son muy versátiles y se ha demostrado que además de función antioxidante participan en procesos como la señalización intracelular, tienen actividad chaperona y participan en la inmunomodulación del hospedero. *Trypanosoma cruzi* contiene dos peroxirredoxinas, una que se localiza en el citosol llamada cTXNPx o CPX y otra cuya localización es mitocondrial llamada mTXNPx o MPX, se ha demostrado que ambas proteínas son importantes para la virulencia y que tienen actividad chaperona *in vitro*. En este trabajo generamos líneas de parásitos Knock down para MPX mediante la tecnología CRISPR/Cas9 para estudiar la

función de esta proteína en respuesta a diferentes tipos de estrés. Encontramos que MPX se encuentra localizada en la mitocondria y en particular asociada al kinetoplasto pero el estrés térmico produce una relocalización de la proteína. Además, este estrés genera una alteración de la oligomerización de la proteína, probablemente modificando su función. De manera interesante, los parásitos deficientes en MPX presentan una menor capacidad de recuperación luego del estrés térmico severo, sugiriendo que cumple una función relevante en este contexto. Los parásitos knock down también fueron más sensibles a peróxidos orgánicos y al fármaco Nifurtimox en comparación con la línea wild type. En cuanto a la infectividad, las líneas deficientes en MPX presentaron una capacidad reducida de invadir células fagocíticas y no fagocíticas, y también una menor infectividad en un modelo murino. Nuestros resultados sugieren que esta proteína cumple un rol importante en la respuesta a los diferentes estresores a los que se enfrenta *T. cruzi* a lo largo de su ciclo de vida. La generación de líneas taggeadas nos ha permitido estudiar el interactoma de MPX aportando conocimiento a la función de la proteína en diferentes condiciones celulares.

Investigating host-pathogen interaction in Chagas disease with a colon-derived organoid model

Hellen Daghero¹, Romina Pagotto¹, Andrea Medeiros^{2,3}, Mariela Bollati-Fogolín¹, Marcelo Comini²

¹Cell Biology Unit, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay. ²Redox Biology of Trypanosomes Lab, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay. ³Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of the Republic, Montevideo, Uruguay. ✉hdaghero@pasteur.edu.uy

Chagas disease presents different clinical manifestations depending on parasite strain and, to a minor extent, the immunological status of the patient. One of them is the megacolon syndrome, which affects the organ's function. In this immune-privileged organ, *Trypanosoma cruzi* can persist and become resistant to treatment. Understanding the organ-level pathophysiology of the disease is crucial for developing effective therapeutic strategies.

Stem cell technologies provide an opportunity to recreate the architecture and function of specific organs *in vitro*, thereby reducing the need for animal experimentation. Intestinal organoids are three-dimensional structures that originate from adult intestinal stem cells or pluripotent stem cells. They closely mimic the crypt-domain structure and functionality of the tissue when cultured *in vitro*, while retaining the ability to present the different cell types found in the intestine.

With the aim to generate biological models for the study of host-pathogen interactions in the digestive form of the disease, this talk will introduce the conditions for generating and infecting murine colon organoids with *T. cruzi*. Our results showed that only specific sections of the organoids were infected, while the infection rate was according to the reported proliferative capacity of different strains. Experiments conducted with the most replicative strain (Dm28C), exhibited a similar ability of the parasite to infect cells from both basolateral and luminal sides of the organoid. Regardless of the dimensional arrangement of the cultures (3D or 2D) or the MOI employed, the parasite demonstrated a preference for invading and multiplying within a specific subset of intestinal cells. We are currently exploring the tropism of the parasite for different cell types or gut-specific regions. The organoid model described here may prove valuable for studying host-pathogen interaction and designing new therapeutic approaches against Chagas's megacolon syndrome.

SIMPOSIO VIII: Diagnóstico de infecciones parasitarias

Explorando herramientas moleculares para el diagnóstico diferencial de infecciones por parásitos intestinales: su aplicación en estudios de prevalencia

Servían A.¹, Repetto S.², Zonta M.L.³, Navone G.T.³

¹INP "Dr. Mario Fatała Chaben", CABA, Argentina. ²IMPam, CONICET-UBA, CABA, Argentina, ³CEPAVE-CONICET-UNLP, La Plata, Argentina. aservian@anlis.gob.ar

Las infecciones parasitarias intestinales, causadas por protozoos y helmintos, representan una importante carga de morbilidad a nivel mundial. Esto se refleja especialmente en términos de crecimiento, desarrollo y capacidad laboral. El diagnóstico preciso es fundamental para conocer su distribución, el impacto en la salud y tomar decisiones terapéuticas. El diagnóstico morfo-métrico puede identificar varias especies, pero algunas solo se pueden diferenciar mediante técnicas más sensibles y específicas. Se han desarrollado herramientas moleculares, como la PCR de regiones génicas, que pueden aplicarse a diferentes géneros de enteroparásitos para una identificación certera. Entre ellos, se encuentran los Ancilostomídeos (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*) y las especies del Complejo *Entamoeba* (*E. histolytica* y otras amebas del mismo género) cuyos estadios diagnósticos (huevo y quistes, respectivamente) son morfológicamente idénticos. Además, se necesitan métodos especiales para la tipificación de parásitos altamente prevalentes en las poblaciones humanas, como *Blastocystis* sp. y *Giardia lamblia*. En este trabajo, se abordó el diagnóstico molecular de estos parásitos en muestras fecales preservadas en etanol 70% obtenidas de individuos de Buenos Aires y Misiones. Se desarrollaron PCRs con primers específicos para *N. americanus* y *A. duodenale*, demostrando su mayor sensibilidad en comparación con las técnicas de sedimentación de Ritchie y flotación de Willis. Estas PCRs se utilizaron para el seguimiento de dos personas con infección por *N. americanus* en una familia proveniente de Paraguay, permitiendo un diagnóstico más rápido y sensible que las técnicas convencionales. En relación al Complejo *Entamoeba*, las pruebas moleculares permitieron una identificación más precisa, corrigiendo la sobreestimación de prevalencia realizada por observación microscópica. Además, se informó el primer caso de infección mixta por *E. histolytica* y *E. dispar* en Buenos Aires. Para el caso de *Blastocystis* sp., se identificaron subtipos y se diseñaron primers específicos para su detección, demostrando su utilidad en estudios de diagnóstico y prevalencia. Se empleó la técnica de metabarcoding, que reveló la presencia de *Blastocystis* sp. incluso en muestras con diagnóstico negativo. Finalmente, se caracterizaron aislamientos de *G. lamblia* por secuenciación y análisis filogenéticos. Se determinaron aislamientos del ensamblaje A (tres de Buenos Aires y uno de Misiones) y del ensamblaje BIV (dos de Buenos Aires). En conjunto, el uso de técnicas moleculares permitió identificar un mayor número de parásitos a nivel de especie, en comparación con la observación morfológica tradicional, creando un perfil parasitológico más completo de las poblaciones analizadas.

34

Desarrollo y aplicación de métodos diagnósticos moleculares y serológicos para piroplásmidos patógenos para el ganado

Leonhard Schnittger¹, Sabrina Ganzinelli¹, Mariana Dominguez¹, Mónica Florin-Christensen¹

¹IPVet, INTA, Hurlingham, Argentina

La piroplasmosis del ganado vacuno, ovino y caprino es causada por diferentes especies del género *Babesia* o *Theileria* y resulta en importantes pérdidas económicas alrededor del mundo. Cuando una

garrapata infectada se alimenta de un hospedador adecuado, los esporozoitos de estos hemoprotozoos presentes en las glándulas salivales ingresan al torrente sanguíneo, se propagan rápidamente y se desarrolla la fase aguda de la enfermedad. Mientras tanto, la respuesta inmune genera anticuerpos específicos contra los parásitos y, en caso de que el animal sobreviva, se produce una fase crónica caracterizada por una baja parasitemia. Los animales con infecciones crónicas no muestran signos clínicos, pero representan un reservorio del parásito, permitiendo su continua transmisión. Es por ello, que los métodos de detección serológicos y moleculares son indispensables para el diagnóstico y permiten, además, determinar la epidemiología, la vigilancia y el control eficiente de estas enfermedades. Esta presentación pretende mostrar ventajas, desventajas y el propósito de diferentes métodos diagnósticos desarrollados por nuestro grupo de trabajo. En relación con los métodos de diagnóstico serológicos, hemos desarrollado un ELISA competitivo (ELISAc) de alta especificidad y sensibilidad para la detección de anticuerpos contra *B. bovis* en bovinos. Los ensayos de ELISA son más objetivos que la inmunofluorescencia indirecta, considerada el *gold standard* para este parásito, y permiten procesar numerosas muestras de manera sencilla y rápida. Además, el formato ELISAc tiene la ventaja adicional de que puede ser usado para la detección serológica en otros hospedadores, como el búfalo de agua. Los métodos serológicos revelan la exposición previa de los animales al parásito, y además, permiten determinar si hay inmunidad de rebaño facilitando la toma de decisiones en cuanto a la vacunación. Por su parte, los métodos moleculares de alta sensibilidad permiten la detección directa del parásito. En este sentido, hemos desarrollado protocolos de PCR anidada para la detección directa de *B. bovis* y *B. bigemina*. Estos protocolos, son más sensibles que las actualmente disponibles PCRs anidadas de referencia, permitiendo detectar una mayor proporción de animales portadores, los cuales fácilmente escaparían a la detección por su extremadamente baja parasitemia y ausencia de signos de enfermedad. Finalmente, cabe mencionar que, en trabajos anteriores, hemos establecido un protocolo de *reverse line blot hybridization* (RLBH) que permite la detección directa en forma simultánea, sensible y específica de todas las especies de *Babesia* y *Theileria* que infectan ovinos y/o caprinos. Este método se utiliza actualmente en muchas regiones para determinar la epidemiología de las especies de piroplásmidos que infectan estos animales, para identificar nuevas especies de piroplásmidos y detectar coinfecciones.

Nuevos enfoques hacia la detección de parasitosis mediante inmunosensores electroquímicos y fluorescentes

Germán Alejandro Messina¹

¹INQUISAL-CONICET-UNSL, San Luis, Argentina

La necesidad de resolver los problemas analíticos que se presentan actualmente en los sectores clínico, agroalimentario, medioambiental y forense, requiere el uso de metodologías sensibles, de bajo costo, rápidas, fiables y portátiles que permitan la detección “in situ” de los biomarcadores de interés. Esta necesidad ha intensificado, en los últimos años, el desarrollo de diferentes biosensores, particularmente inmunosensores, los cuales poseen gran selectividad y sensibilidad, además de ser extremadamente eficientes en el reconocimiento y amplificación de la señal analítica.

En esta presentación se describirán los aspectos más relevantes del diseño, caracterización y aplicaciones analíticas de nuevos inmunosensores electroquímicos y fluorescentes destinados a la cuantificación temprana de biomarcadores de impacto clínico.

En este sentido, en lo referido a enfermedades parasitarias, la detección temprana, el tratamiento y la prevención tienen un impacto significativo en la mejora de la calidad de vida individual y comunitario, contribuyendo a mejorar de la salud pública en general.

Se ha demostrado, que la incorporación de nanomateriales en el desarrollo de inmunosensores, para ser aplicados en diversos análisis, representa una estrategia versátil para obtener dispositivos de detección altamente sensibles. Estos nanomateriales pueden ser utilizados para la modificación del

sistema de detección o bien como soportes de bioafinidad, para la inmovilización de los elementos de bio-reconocimiento. Por lo antes mencionado, se abordarán las ventajas de la obtención de superficies modificadas con diferentes nanomateriales, biomoléculas y polímeros. Se pondrá especial énfasis en el análisis y descripción del diseño de dispositivos, la funcionalización de nanomateriales, las vías de inmovilización de biomoléculas empleadas y la estrategia de transducción adoptada, ya que estos factores afectan directamente la eficiencia de los dispositivos desarrollados.

SIMPOSIO IX: Epidemiología y Vectores

Enfoque integrado para el estudio de la fasciolosis

Silvana Carnevale^{1,2}, Jorge Bruno Malandrini³, Mirna Sawicki⁴, María Laura Pantano¹, Laura Kamenetzky^{2,5}, Claudia Cecilia Soria³, Jorge Néstor Velásquez⁴

¹INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina. ²CONICET, Argentina. ³FCS-UNCA, Catamarca, Argentina. ⁴Hospital Muñiz, Buenos Aires, Argentina. ⁵FCEN - UBA, Buenos Aires, Argentina.

La fascioliasis es una trematodiasis de distribución mundial, considerada como una enfermedad olvidada. En Argentina, su prevalencia en el hombre está subvalorada por problemas en el diagnóstico. Esta parasitosis tiene características tales como su transmisión alimentaria, hídrica, vectorial y zoonótica, por lo cual, su manejo requiere de un enfoque integrado y dado que presenta gran heterogeneidad, requiere ser estudiada en cada zona. Esta heterogeneidad de la fasciolosis humana nos coloca ante diferentes escenarios epidemiológicos y diversos patrones de transmisión desde el punto de vista del paisaje, de modo que su estudio requiere no sólo del conocimiento del propio parásito sino también del ambiente en el cual se desarrolla y de sus hospedadores definitivos e intermediarios.

Contamos hoy para los estudios ambientales con los sistemas de información geográfica.

En humanos, el diagnóstico se basa esencialmente en los estudios coproparasitológicos y los métodos inmunológicos, siendo las técnicas de diagnóstico por imágenes sugestivas de la presencia del parásito. Estos métodos presentan distinta utilidad según la fase clínica. Hemos desarrollado una técnica de amplificación molecular que tiene un alto valor en la detección de infecciones bajas y tempranas y permite distinguir entre infecciones actuales y pasadas.

Los métodos de diagnóstico de fascioliasis en animales se basan principalmente en el análisis parasitológico y las técnicas moleculares en heces.

En hospedadores intermediarios realizamos la identificación de caracoles mediante estudios morfométricos y empleamos las técnicas moleculares para la identificación de especie de caracol y detección de infección.

Para el estudio de adultos parasitarios realizamos estudios fenotípicos y caracterización molecular.

Disponiendo de todo lo mencionado, estudiamos esta zoonosis en zonas de diferente altitud en Argentina: Tatón, provincia de Catamarca a 1776 m y El Arenal en la provincia de Salta, a 770 m de altitud.

Las conclusiones generales de los trabajos que hemos efectuado son: detección de infección en diferentes fases clínicas, diferentes situaciones epidemiológicas y nuevos patrones de transmisión; infección de una amplia gama de especies hospedadoras definitivas; presencia de especies de limnaeidos asociadas a situaciones de endemidad; colonización de ambientes con diferentes climas; poblaciones de parásitos genéticamente diferenciadas, pero sin asociación entre haplotipos y ubicación geográfica, hospedador o morfología; y principalmente la disponibilidad de un algoritmo de diagnóstico para humanos que combina diferentes metodologías (clínicas, directas, inmunológicas, moleculares, de imágenes), capaz de detectar incluso áreas con baja prevalencia o intensidad, caracterizadas por la presencia de sujetos infectados por cargas bajas, parásitos viejos y/o en diferentes fases de la enfermedad.

Reconocimiento del alimento en un insecto vector

Romina B Barrozo¹

¹IBBEA CONICET – UBA; DBBE FCEN UBA, Buenos Aires, Argentina. Email: rbarrozo@bg.fcen.uba.ar

En la búsqueda de alimento, los insectos utilizan distintas claves sensoriales para detectar y evaluar su fuente de alimento. La integración de esta información multisensorial les permite estimar la presencia y distancia al alimento, minimizando errores y evitando confundir el alimento con algo que no lo es. El sentido térmico, hídrico y olfativo son esenciales en la orientación y localización del alimento en el espacio para un insecto hematófago. No obstante, la ambigüedad sensorial es parte intrínseca de la inferencia a distancia de la presencia de una fuente de alimento. Una vez que el insecto encuentra su hospedador, el sistema gustativo le permite realizar una evaluación más precisa del valor nutricional o de la potencial toxicidad del alimento. La primera evaluación gustativa ocurre sobre la piel del hospedador, lo que determina si decidirá picar o no picar. La segunda evaluación tiene lugar al ingerir la sangre, lo cual desencadena la decisión final: comer o no comer. El sistema gustativo es una modalidad sensorial altamente especializada, capaz de detectar sustancias de altamente palatables que indican alimentos nutritivos, favoreciendo la alimentación, así como sustancias de baja palatabilidad que señalan peligro potencial, provocando el rechazo del alimento. Por lo tanto, este sistema se convierte en la última y más fiable instancia para tomar decisiones binarias sobre si ingerir o rechazar una posible fuente de alimento. Sin embargo, el escenario completo de cómo los insectos evalúan la calidad de una fuente de alimento potencial es aún limitado. En este contexto, resumo el conocimiento actual sobre la toma de decisiones de alimentación en un insecto vector de enfermedades, *Rhodnius prolixus*.

SIMPOSIO X: Inmunología

Moving forward with antigen-specific T cell response in Chagas disease: deciphering the immunopeptidome landscape in *Trypanosoma cruzi* infection

Fátima Ferragut¹, Robert Parker², Nicola Ternette², Morten Nielsen^{3,4}, Karina Gómez¹

¹Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular "Dr. Héctor N. Torres" (INGEBI-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. ²Centre for Cellular and Molecular Physiology, Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, UK. ³Department of Bio and Health Informatics, Technical University of Denmark, Denmark. ⁴Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín, Argentina.

T lymphocyte-mediated immune response against *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), the parasite causing Chagas disease, is relevant for both parasite control and disease pathogenesis. Therefore, the study of T cells results crucial to the understanding of the immune response in patients and thus contribute to the development of therapies and/or vaccines. However, many challenges are faced when attempting to identify T cell epitopes that can be used for diagnostic or preventive purposes. The complexity of the parasite-host interactions added to the large *T. cruzi* proteome and the diversity of human leukocyte antigen (HLA) haplotypes in humans hamper the characterization of T cell-activating epitopes, with high population coverage. To date, only a limit number of *T. cruzi* T cell antigens have been described and only a small proportion of HLA population diversity has been covered. To facilitate this issue, we profiled the repertoire of HLA class I and class II-bound peptides presented by human monocyte-derived macrophages infected or not with *T. cruzi*. Herein we purified HLA-peptide complexes from infected and uninfected cells and characterized the peptide ligands using LC/MS. For this subset of peptides, the binding to HLA class I and II alleles from THP-1 haplotype was predicted by using MHCmotifDecon1.1, NetMHCpan 4.1a and NetMHCIIpan 4.2 algorithms based on artificial neural network trained with empirical HLA binding and immunopeptidomics data. Our approach allowed us to identify 66 *T. cruzi* encoded ligands originating from 37 proteins, many of them outside TS proteins and with intracellular localization. Additionally, results showed no difference in length between *T. cruzi* and uninfected host ligands, thus suggesting that the parasite does not alter antigen processing and presentation machinery in the host cell. For *T. cruzi* source proteins, 8-12-mer and 12-21-mer peptides were extracted for HLA class I and II, respectively. Binding to a set of 19 HLA-A, 28 HLA-B, 19 HLA-C molecules prevalent in Latin America and 28 HLA-DRB1 alleles, 13 HLA-DPA1/DPB1 and 36 HLA-DQA1/DQB1 haplotypes were predicted using NetMHCpan 4.1 and NetMHCIIpan 4.1 methods, respectively. Finally, we selected 2 sets of 50 peptides each, 19 amino acid residues long, with optimal allelic (and potential *T. cruzi* strain genomic variation) coverage by using PopCover 2.0 method spanning all HLA alleles previously tested. Those peptides will be validated by evaluating T cell response in chronic Chagas disease patient samples. As far as we know, this study represents the most comprehensive immunopeptidomic dataset available for *T. cruzi* to date. This knowledge holds great promise for understanding adaptive immune activation in chronic Chagas disease and for direct rational discovery of T cell antigens.

Infección por *T. cruzi*: estudio de la respuesta inmune y desarrollo de nuevas terapias

Carolina Poncini¹

¹IMPam UBA-CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina

La persistencia de *T. cruzi* en los tejidos y la ausencia de daño previo a la aparición de síntomas durante la infección, sugieren la modulación de la respuesta inmune hacia un perfil incapaz de erradicar al patógeno. Estudios previos de nuestro equipo de trabajo permitieron la caracterización celular en el entorno infeccioso con especial atención en células mieloides y dendríticas (DCs). Los resultados obtenidos demostraron que *T. cruzi* imparte un programa inmunoregulatorio y un retraso en el desarrollo de la inmunidad antiparasitaria.

El estudio de los eventos tempranos posteriores a la entrada de *T. cruzi*, permite la identificación de mecanismos celulares potencialmente importantes para el diseño racional de terapias contra el parásito. En trabajos recientes confirmamos que la interacción de trypomastigotes con DCs derivadas de médula ósea, favorece la liberación de vesículas extracelulares (EVs) por las DCs. La caracterización de su composición y su uso en ensayos de inmunización demostraron su potencial como terapia profiláctica en el modelo de infección experimental letal. Por lo tanto, proponemos que el estudio minucioso de tales partículas (EVs) permitirá la identificación de componentes relevantes para el diseño de nuevas formulaciones y/o tratamientos contra la enfermedad de Chagas.

¿Puede la re-exposición al *Toxoplasma gondii* afectar la respuesta inmune sistémica y la evolución clínica de los pacientes con toxoplasmosis ocular crónica?

Marcelo Rudzinski^{1,2,3}, Lais Pardini^{3,4}, Mariana Bernstein^{3,4}, Gastón Moré^{3,4}, Marina Khoury M.⁵, Silvia Reina^{2,3}, José R. Oubiña J.R.⁶

¹Cátedra de Oftalmología, UCAMI, Posadas, Argentina. ²Centro de Investigación, UCAMI, Posadas, Argentina. ³CONICET. ⁴Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), UNLP, La Plata, Argentina. ⁵Instituto de Investigaciones Médicas "Dr. Alfredo Lanari", UBA, CABA, Argentina. ⁶Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, IMPaM, UBA-CONICET, CABA, Argentina

Con el objeto de explorar la potencial influencia de reconocidos factores de exposición a la infección por *T. gondii* sobre algunos elementos de la respuesta inmunitaria sistémica y en la evolución clínica de la enfermedad ocular, se estudiaron 32 pacientes con toxoplasmosis ocular crónica, ya sea durante la reactivación de una retinocoroiditis toxoplásmica (RRT) o en el estadio cicatrizal inactivo. Se obtuvieron datos epidemiológicos a través de una breve encuesta y los datos clínicos fueron registrados en las historias clínicas de cada paciente. Los niveles de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* y de las citoquinas IFN- γ e IL-10 fueron determinados en el suero de todos los individuos. Las mismas citoquinas fueron también analizadas en el sobrenadante de un ensayo de liberación de citoquinas (ELC), tipo IGRA.

El consumo de embutidos ahumados obtenidos con carne cruda de cerdo (65,6%) seguido de la presencia de gatos en el interior del domicilio (56,3%) fueron los factores de exposición al parásito identificados con mayor frecuencia en esta población de pacientes. Para poder estudiar el eventual efecto de los factores epidemiológicos en forma individual y conjunta sobre los marcadores de la respuesta inmune y la evolución clínica, se generó un índice individual denominado Índice de los Factores Epidemiológicos (IFE). Dicho índice es igual a la suma de los factores epidemiológicos individuales y su valor probable oscila entre 0 y 5. Cuando se intentó correlacionar el IFE con el nivel de anticuerpos anti-*T. gondii* de cada paciente se observó una correlación positiva estadísticamente significativa ($p < 0,05$, $r = 0,580$). Una discreta pero significativa correlación negativa se obtuvo cuando el IFE se relacionó con el número de episodios de RRT registrados en cada paciente ($p < 0,05$, $r = -0,446$). No se evidenciaron correlaciones estadísticamente significativas entre los factores de exposición (analizados de forma conjunta o individualmente) y los valores séricos de IFN- γ o IL-10. Por el contrario, se observó una correlación positiva estadísticamente significativa entre los valores de IL-10 cuantificados en el sobrenadante del ELC y los valores de IFE de cada paciente ($p < 0,05$, $r = 0,558$). A su vez, se pudo evidenciar una correlación negativa estadísticamente significativa entre

los valores de IL-10 liberados en el sobrenadante del ELC y el número de episodios de RRT padecido por los pacientes ($p=0,012$, $r=-0,671$).

En conclusión, este estudio sugiere que los factores epidemiológicos que favorecen una posible re-exposición al *T. gondii* pueden reducir la frecuencia de las RRT. Dichos factores influyen los niveles de IL-10 liberados por las células mononucleares de sangre periférica en el sobrenadante del ELC.



TALLERES

TALLER Grupo ¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?

Chagas y comunicación: sentidos, escenarios y estrategias en la academia y más allá...

Mariana Sanmartino^{1,2}, Ana Laura Carbajal de la Fuente^{1,3}, Maria Soledad Scazzola^{1,4}, Marina Ibáñez Shimabukuro^{1,5}, Carolina Carrillo^{1,6}.

¹Grupo ¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?, Argentina. ²Grupo de Didáctica de las Ciencias, IFLYSIB-CONICET, La Plata, Buenos Aires, Argentina. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. ⁴Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, La Plata, Argentina. ⁵CEPAVE-CONICET, La Plata, Buenos Aires, Argentina. ⁶ICT Milstein CONICET - FPC, CABA, Argentina.

Con frecuencia en los ámbitos académicos hablamos de Chagas en referencia a la enfermedad, al agente etiológico, al vector o su distribución temporo-espacial. Sin embargo, el Chagas trasciende conceptos biomédicos y epidemiológicos, incluyendo dimensiones, campos del conocimiento y saberes, tradicionalmente subestimados o subalternizados, que están directamente involucrados con el impacto social y público de la problemática. El 14 de abril de 2020 se conmemoró oficialmente por primera vez en la historia el *Día Mundial de la Enfermedad de Chagas*, fecha inicialmente propuesta por la Federación Internacional de Asociaciones de Personas Afectadas por el Chagas (FINDECHAGAS) y aprobada por la Asamblea Mundial de la Salud en mayo de 2019. En ese contexto de Pandemia COVID-19 (y de Aislamiento Social Preventivo y Obligatorio), buscando colocar una fecha tan significativa en la agenda de quienes trabajamos en Chagas, entre el Grupo *¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?* y el Programa Nacional de Chagas del Ministerio de Salud de la Nación organizamos el conversatorio virtual “Comunicación y Chagas. ¿Para qué?”, a partir del cual se generó el documento “Comunicación y Chagas. Bases para un diálogo urgente”, que a su vez posteriormente dió lugar al documento “Lineamientos generales para el abordaje comunicacional del Chagas”, elaborado por el Ministerio de Salud de la Nación.

A tres años del primer evento -y con 4 conversatorios virtuales sobre Comunicación y Chagas realizados desde entonces- encontramos todavía vigente la necesidad de generar espacios de reflexión sobre el valor no sólo académico o científico sino también social de la comunicación sobre la problemática de Chagas. Vale mencionar que entendemos a la comunicación como todo proceso de producción social de contenidos, sentidos y saberes basado en una mirada colectiva, relacional y dialógica; un proceso que, en su práctica, debe reconocer las diferencias culturales y particularidades sociales de los espacios, grupos y comunidades. Por todo esto, en tanto integrantes de una comunidad que produce - y comunica - conocimientos vinculados con múltiples aspectos de la problemática de Chagas, (nos) proponemos un espacio para pensar colectivamente sobre el valor de una comunicación situada y empática. Asimismo, esperamos compartir reflexiones y recomendaciones generadas en los conversatorios y documentos mencionados. Esperamos que estos recursos y estos diálogos resulten valiosos para enriquecer la comunicación sobre Chagas, y otras problemáticas de salud abordadas por nuestra comunidad científica.



COMUNICACIONES ORALES

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO I: Parásitos de interés en Salud Animal

PSA-018

Evidencia serológica de *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en roedores silvestres y sinantrópicos de sistemas productivos bovinos lecheros del sudeste de Buenos Aires

Judith V Bentancourt Rossoli¹, Agustina Soto- Cabrera², Dadín P Moore², Julieta Pedrana³, Lucia M Campero², Yanina P Hecker⁴, Nathalia P Scioscia¹

¹IIPROSAM-CONICET, Mar del Plata, Argentina. ²IPADS-INTA-CONICET, Balcarce, Argentina. ³CONICET, Mar del Plata, Argentina. ⁴CONICET, Balcarce, Argentina

Neospora caninum y *Toxoplasma gondii* son parásitos del Phylum Apicomplexa, con ciclos de vida heteroxenos facultativos, con cánidos y félidos como hospedadores definitivos, respectivamente, y diversos animales de sangre caliente como hospedadores intermediarios. Existe escasa información sobre la presencia de anticuerpos (Ac) en roedores sinantrópicos y no existen evidencias serológicas en roedores silvestres de Argentina. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de Ac contra *N. caninum* y *T. gondii* en roedores capturados en establecimientos bovinos lecheros del sudeste de Buenos Aires y relacionarlos con las variables intrínsecas del hospedador y la existencia de coinfección. Se realizó el diagnóstico serológico mediante inmunofluorescencia indirecta a 356 roedores (337 sueros y 19 muestras de jugos de carne) de 14 establecimientos. Se capturaron 3 especies sinantrópicas: *Mus musculus* (n=194), *Rattus norvegicus* (n=15) y *R. rattus* (n=4); y 6 silvestres: *Oxymycterus rufus* (n=57), *Necromys lasiurus* (n=42), *Akodon azarae* (n=28), *Oligoryzomys flavescens* (n=11), *Calomys musculus* (n=4) y *C. laucha* (n= 1). Se observó el 1,7% (6/356) de los animales seropositivos a *N. caninum* (4 *M. musculus*, 1 *O. rufus* y 1 *N. lasiurus*) y el 9,8% (35/356) a *T. gondii* (20 *M.*

musculus, 9 *O. rufus*, 3 *N. lasiurus*, 2 *A. azarae* y 1 *O. flavescens*). Sólo un individuo (*M. musculus*) presentó Ac frente a ambos parásitos. No existió asociación entre la presencia de Ac para ambas enfermedades y las variables intrínsecas del hospedador analizadas ($p < 0,05$). Los títulos para *T. gondii* fueron superiores (1/800) respecto a *N. caninum*. Se detectó una baja seroprevalencia de *N. caninum*, al igual que para *T. gondii* en relación a lo reportado en roedores sinantrópicos del país. Es el primer estudio serológico de *N. caninum* y *T. gondii* en roedores silvestres de Argentina. Actualmente, se están realizando estudios moleculares en roedores seropositivos para confirmar la infección natural.

IyV-054

Explorando múltiples estrategias de protección contra la Infección de *Neospora caninum* en un modelo murino.

Andrés M Cabrera^{1,2}, Soledad Echeverría¹, Florencia Ruppel¹, Federico Carrión³, Carlos Robello^{1,4}

¹Laboratorio de Interacciones Hospedero Patógeno, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. ²Departamento de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay. ³Unidad de Biofísica de Proteínas, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. ⁴Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay

Neospora caninum, un parásito coccidio intracelular obligado, causa la neosporosis. Este parásito invade activamente las células de los hospederos y persiste crónicamente en formas enquistadas que pueden reactivarse durante la preñez y transmitirse al feto, lo que lo convierte en una de las principales causas de aborto bovino en el mundo, con pérdidas económicas significativas.

Desafortunadamente, no existen fármacos efectivos para tratar la forma crónica de la enfermedad. La vacunación se considera la estrategia más prometedora para controlar la neosporosis bovina debido a su relación costo-beneficio favorable. Se han investigado diversas estrategias de vacunación tomando como ejemplo el modelo murino, desde lisados

completos de parásitos hasta antígenos recombinantes e incluso parásitos vivos atenuados. Actualmente, se reconoce que los parásitos vivos atenuados representan la opción más prometedora a corto plazo para el control de la neosporosis. El aislamiento de cepas locales de parásitos atenuados y la identificación de proteínas inmunogénicas eficaces para controlar la infección por este parásito son cruciales para optimizar el desarrollo de la vacuna. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes estrategias en el desarrollo de una vacuna contra *N. caninum* en el modelo murino. En nuestro estudio, realizamos una evaluación que incluyó una cepa atenuada previamente aislada en el laboratorio. Además, esta misma cepa se inactivó para otro conjunto de experimentos. También, examinamos dos proteínas de superficie que fueron producidas utilizando células de *Drosophila melanogaster* como sistema de expresión. Los resultados que obtuvimos indican que tanto la cepa atenuada como las proteínas tienen la capacidad de proteger contra la infección aguda causada por una cepa virulenta de este parásito.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO II: Biología Celular

IPH-040

Cambios en la metilación de ADN y expresión génica durante el proceso de interacción *Trichomonas vaginalis*:hospedador

Daniela Muñoz¹, Ayelen Lizarraga¹, Florencia Díaz Viraque², Pablo Strobl-Mazzulla¹, Carlos Robello², Natalia de Miguel¹

¹Laboratorio de Parásitos Anaerobios. INTECH (CONICET-UNSAM), ² Instituto Pasteur Montevideo. Uruguay

Trichomonas vaginalis es el parásito extracelular causante de la enfermedad de transmisión sexual no viral más difundida a

nivel mundial, la tricomoniasis. Es por esto que comprender los mecanismos moleculares que regulan el proceso de infección de este parásito es de suma importancia. Se sabe que, durante el proceso de interacción con las células del hospedador, existe un cambio abrupto en la expresión de genes que se da de manera coordinada. Trabajos previos de nuestro laboratorio han demostrado que las regulaciones epigenéticas, y particularmente las metilaciones en N6-metiladenina (6mA), son capaces de modular la estructura tridimensional (3D) de la cromatina y la expresión génica en este parásito. Teniendo en cuenta estos resultados, hipotetizamos que la metilación de ADN podría ser un proceso dinámico capaz de generar cambios rápidos y concertados en la expresión de genes claves para el proceso de infección en este parásito. Con el objetivo de comprender el rol de la metilación del ADN en el proceso de interacción de *T. vaginalis* con células prostáticas, examinamos la localización de 6mA a lo largo de todo el genoma tanto de parásitos en estado de vida libre, así como también parásitos adheridos a células prostáticas, detectando cambios en el posicionamiento de la metilación de adeninas entre ambos estados. Al mismo tiempo identificamos genes expresados diferencialmente (silenciados o activos) durante el proceso de interacción con células del hospedador, mediante ensayos de RNA-seq. Nuestros resultados sugieren que 6mA podría estar regulando la expresión de genes asociados al proceso de interacción parásito: hospedador. Además, proporcionan nuevos e importantes conocimientos sobre la regulación epigenética de *T. vaginalis*, que podrían ayudar a comprender los mecanismos que conducen a la adherencia y citotoxicidad del parásito.

BMC-118

An unconventional RNA-binding protein defines the mRNA-fate of the major variant surface antigen in *Trypanosoma brucei*.

Eliezer A Cruz¹, Lucas Brito¹, Yureglis Valencia¹, Larissa M do Nascimento², Franziska Egler², Katharina Arnold², Nina Papavasiliou², Christine Clayton², Esteban Erben¹

¹IIB-UNSAM, San Martin, Argentina. ²Centre for Molecular Biology of Heidelberg University, Heidelberg, Germany

In trypanosomes, gene expression is heavily controlled by RNA-binding proteins (RBPs), which can influence mRNA decay and/or translation rates. In *Trypanosoma brucei*, several RBPs do it by interacting with the hub regulator MKT1. By associating with MKT1, the mRNA is further decorated with a stabilization complex including the PBP1, XAC, LSM12 and PABP2 proteins and some specific translation initiation complex subunits. We have recently shown that CFB2 is a non-canonical RNA-binding protein that interacts with MKT1 and is essential for maintaining VSG mRNA levels in bloodstream-form trypanosomes. Reporter experiments indicate that CFB2's activity is dependent on a conserved 16-mer element in the VSG 3'-untranslated region. Interestingly, this motif seems to be also required for inclusion of m6A in the poly(A) tail of VSG conferring mRNA stability. CFB2 interacts with MKT1 via a conserved HDPY motif, and genetic ablation of this motif abolishes CFB2 expression-promoting activity. CFB2 also possesses an N-terminal cyclin-F-box domain, commonly found in E3 ligase components of the ubiquitination machinery. We have demonstrated that the interaction between CFB2 and trypanosome SKP1, a component of SCF complexes, depends on the F-box domain, and is involved in regulating CFB2 abundance. We have found out that while a CFB2 mutant version lacking the residues potentially involved in the RNA-binding recognition is still able to promote reporter gene expression, CFB2 variants unable to interact to SKP1 are not. We are currently investigating how CFB2 recognizes the VSG mRNA; the molecular mechanisms operating behind the 16-mer requirement and why the presence of the SCF complex seem to be required to confer VSG mRNA stability. Preliminary work will be presented.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO III:

Microparásitos en animales silvestres

IPH-024

Microparásitos en el caracol manzana, *Pomacea canaliculata* (Ampullaridae) en el sudeste de la provincia de Buenos Aires

Lorena E Martínez¹, Nuria N Vázquez², Carmen Gilardoni², Pablo Martín³, Florencia Cremonte², Jorge A Etchegoin¹

¹IIPROSAM, CONICET-UNMdP, Mar del Plata, Argentina.

²CCT CONICET- CENPAT, Puerto Madryn, Argentina.

³Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina

Las infecciones por protozoos son comunes entre los invertebrados. Éstos establecen asociaciones simbióticas y parásitas con sus hospedadores influyendo potencialmente en su estado de salud. El caracol manzana es un gasterópodo que habita cuerpos de agua dulce en la cuenca del Plata. Esta especie fue introducida en numerosos países y es considerada una de las 100 peores invasores a nivel mundial. En este trabajo, se evaluó por primera vez para *Pomacea canaliculata*, la presencia y prevalencia (P) de microparásitos y los eventuales daños tisulares ocasionados. Para ello, se colectaron 140 ejemplares en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. Cada espécimen se diseccionó y se observó bajo lupa; se fijaron los órganos (intestino, gónada, glándula digestiva, sifón inhalante, pie, pulmón, riñón, estómago, branquia y borde del manto) y a través del procesamiento histológico clásico se obtuvieron cortes, que fueron examinados al microscopio óptico. En el examen macroscópico, se observaron nódulos blancos, de hasta 2 mm de diámetro, localizados en el riñón y ocasionalmente fusionados en grandes masas. El análisis microscópico reveló que éstos correspondían a xenomas formados por organismos similares a *Sphenophrya* spp. y que se hallaban en casi todos los órganos estudiados, con una P= 12%. Además, estos ciliados intracelulares se encontraron adheridos al epitelio de las branquias (P= 5%). Ciliados no identificados fueron hallados en la luz del intestino, y otros

similares a *Trichodina* sp. entre las laminillas branquiales, sin evidencia de patología asociada. Por otro lado, se hallaron plasmidios de un protozoo no identificado (P= 4%) que está siendo estudiado al microscopio electrónico de transmisión y molecularmente para establecer la identidad taxonómica. Estos parásitos son citados por primera vez para esta especie. Conocer los microorganismos asociados a este caracol invasor es de vital importancia para la conservación de los sistemas acuáticos.

PSA-100

Presencia de *Cryptosporidium* sp en la fauna silvestre y peridoméstica de un establecimiento lechero del partido de Luján (Buenos Aires).

Ana C Gozzi¹, Rodrigo Argañaraz², Gustavo E Carullo², Martín J Zumárraga³, María E Eirin³, María E Solana²

¹INEDES, Luján, Argentina. ²Cs. Básicas, UNLu, Luján, Argentina. ³IABIMO, Hurlingham, Argentina

Cryptosporidium sp es un protozoo que causa diarrea severa en niños y personas adultas inmunocomprometidas. Presenta decenas de especies que infectan a una gran variedad de vertebrados, siendo *C. parvum* la principal especie antroponóptica que produce diarrea en terneros neonatos provocando importantes pérdidas pecuarias. Se transmite por fecalismo mediante la ingesta de agua o alimentos contaminados con ooquistes. Estudios previos demostraron que *C. parvum* es la especie mayoritaria que circula en rodeos lecheros de Luján, seguida por *C. bovis*. Dada su prevalencia en la región (27%) resulta importante establecer el papel epidemiológico de la fauna silvestre y peridoméstica. Para ello se trabajó entre el invierno 2022-otoño 2023 en un establecimiento lechero del partido de Luján. Se dispusieron distintas trampas de captura viva en diferentes ambientes, a zonas cercanas a la guachera, cursos de agua, arboledas, pastizales y áreas de mayor actividad humana. Los muestreos se realizaron durante 4 noches consecutivas para cada estación. Se tomaron muestras de materia fecal de los individuos capturados que fueron

procesadas por frotis y tinción de Kinyoun para la detección de ooquistes resistentes al ácido-alcohol (AAR). Se recolectaron muestras de roedores sigmodontinos (n= 26), *Didelphis albiventris* (n=10), *Felis catus*(n=3), *Lycalopex gymnocercus* (n= 8), *Myocastor coypus* (n= 3), *Antilope cervicapra* (n= 6), y quirópteros (n=1 grupo). Se observaron estructuras AAR de 4-6 µm de diámetro compatibles con ooquistes de *Cryptosporidium* sp en muestras de 5 roedores sigmodontinos, 3 *M. coypus*, 4 *L. gymnocercus*, 4 *D. albiventris*, 5 *A. cervicapra* y 3 *F. catus*. De las mismas se extrajo ADN para realizar técnicas moleculares (PCR *touchdown*). Su confirmación molecular y posterior genotipificación permitirá conocer el valor de los mamíferos silvestres/peridomésticos en la transmisión de *Cryptosporidium* sp en el área estudiada.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO IV: Biología Molecular y Bioquímica

BMC-007

Organización tridimensional de la cromatina en *Trypanosoma cruzi*

Florencia Díaz-Viraqué¹, María L Chiribao², Gabriela Libisch¹, Carlos Robello²

¹Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.
²Institut Pasteur de Montevideo - UdelaR, Montevideo, Uruguay

Los tripanosomas son parásitos unicelulares eucariotas que causan enfermedades tanto en humanos como en animales, dentro de los cuales se encuentran *Trypanosoma brucei*, que causa la enfermedad del sueño, y *Trypanosoma cruzi*, que causa la enfermedad de Chagas. Los genomas de estos parásitos comprenden regiones core y regiones disruptivas, estas últimas específicas de cada especie y es donde se localizan las familias multigénicas de glicoproteínas de superficie. Se han identificado pocos elementos reguladores transcripcionales en estos parásitos y el rol de la organización espacial del genoma en la expresión génica está escasamente explorado.

En este trabajo mapeamos las interacciones de la cromatina en todo el genoma de *T. cruzi* mediante Chromosome Conformation Capture (Hi-C), y mostramos que las regiones core y disruptivas forman compartimentos tridimensionales de la cromatina denominados C y D. Estos compartimentos de cromatina difieren en los niveles de metilación del ADN, posicionamiento de nucleosomas e interacciones de cromatina, lo que afecta la dinámica de expresión del genoma. Nuestros datos indican que el genoma de los tripanosomas está organizado en dominios de plegamiento de la cromatina y la transcripción se ve afectada por la estructura local de la cromatina. Proponemos un modelo en el que los mecanismos epigenéticos afectan la expresión génica en los tripanosomas.

BMC-120

El papel central de *TcBDF6* en la infectividad y desarrollo de amastigotes en *Trypanosoma cruzi*.

Victoria . Boselli¹, Virginia G Perdomo², Esteban C. Serra¹

¹IBR CONCIET, Rosario, Argentina. ²FCBF-UNR, Rosario, Argentina

En *T. cruzi*, la estructura de la cromatina es esencial para la regulación de expresión de genes. Ésta es establecida por complejos multiproteicos que pueden modificar las histonas. Muchos de estos complejos poseen proteínas con bromodominios, que reconoce las lisinas acetiladas de las histonas. Para uno de los bromodominios en *T. cruzi*, hemos generado dos cepas mutantes, Dm28cBDF6^{+/-} y Dm28cBDF6^{-/-} que presentaron un crecimiento más bajo en epimastigotes que la cepa control. Los tripomastigotes Dm28cBDF6^{-/-} mostraron una deficiencia en la capacidad de infectar células Vero y una replicación de amastigotes intracelulares prácticamente nula. Realizamos una complementación transformando la cepa mutante, con un plásmido pTEXbdf6. Los epimastigotes y amastigotes mostraron un fenotipo parcialmente revertido. Una de nuestras hipótesis es que TcBDF6 estuviera implicado en algún proceso de reparación del ADN (daños por UV) o respuesta vinculada al

estrés oxidativo (H₂O₂, NFX, BZL). Analizamos los resultados de la exposición de la cepa mutante de BDF6^{-/-}. Sin embargo, la cepa Dm28cBDF6^{-/-} no mostró una mayor sensibilidad al peróxido ni al UV. Paralelamente, realizamos un análisis de RNA-Seq y se observó que TcBDF6 afecta la expresión de un número limitado de genes, que se encuentran disminuidos. Entre estos genes se encuentra la secuencia de codificación de la nitroreductasa (responsable de la reducción de los fármacos tripanocidas BZL y NFX), que muestra una disminución en los niveles de ARN mensajero. Justamente, Dm28cBDF6^{-/-} muestra una resistencia significativa a estos fármacos en comparación con la cepa control y este efecto se ve parcialmente revertido al complementar la cepa mutante con TcBDF6. Los resultados de RNAseq, mostraron casi un 90% de los genes disminuidos, se encuentran concentrados en 4 regiones determinadas del genoma. Estos resultados sugieren que la función de TcBDF6 podría ser muy importante durante la infectividad y replicación de amastigotes.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO V:

Desarrollo de drogas antiparasitarias

BMC-051

RAD51, PROTEÍNA CLAVE EN LA REPARACIÓN DEL DAÑO AL ADN, ESTARÍA INVOLUCRADA EN EL CICLO CELULAR DE *Toxoplasma gondii*

Ana M Saldarriaga Cartagena¹, Constanza Cristaldi¹, Agustina Ganuza¹, Laura Vanagas¹, William J Sullivan², Sergio O Ángel¹

¹INTECH, Chascomús, Argentina. ²IUPUI, Indianapolis, USA

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado con una alta tasa de replicación que puede conllevar a estrés replicativo del ADN, asociado a su vez con la generación de roturas de doble cadena de ADN (DSB, por sus siglas en inglés). Las células tienen dos vías principales para reparar los DSB: unión de extremos no

homólogos y reparación por recombinación homóloga (NHEJ y HRR respectivamente, por sus siglas en inglés). RAD51 es la recombinasa clave en la vía HRR. Estudios *in silico* demostraron que la mayoría de los componentes de la vía HRR son esenciales en el ciclo lítico, incluyendo a RAD51. En este trabajo logramos el etiquetado endógeno del gen *RAD51* utilizando el sistema AID-HA, y generamos la línea clonal RHΔKU80-RAD51-AIDHA. Demostramos que RAD51 se expresa en taquizoitos replicativos y forma focos de daño. El knock-down (KD) inducido mediante auxina afecta la correcta replicación de los parásitos que muestran pérdida de la sincronización. Esto se evidencia en parásitos de una misma vacuola que se observan en diferentes fases del ciclo celular. El uso de un inhibidor de RAD51, B02, altera el crecimiento del parásito a un IC₅₀= 5μM, a esa concentración también es posible observar alteraciones en la replicación del taquizoito similares a lo observado por el KD. En conclusión, la vía de HRR es necesaria para una correcta replicación del taquizoito en condiciones normales de crecimiento, apoyando la existencia de un estrés replicativo durante su ciclo celular.

BMC-060

Estudio funcional del microRNA miR-71 en parásitos cestodos modelo

Andrés R. Grecco¹, Natalia A. Macchiaroli², Marcela A. Cucher¹, Mara C. Rosenzvit¹

¹IMPAM-UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ²IB3-FCEN, Buenos Aires, Argentina

Mesocostoides vogae es un parásito validado como modelo de estudio de la clase Cestoda, la cual incluye especies como *Echinococcus granulosus* sensu lato que causa equinococosis quística. Los microRNAs (miRNAs) son pequeños RNAs no codificantes, cuyo rol principal es la regulación de la expresión génica a nivel post-transcripcional. miR-71 es un miRNA altamente expresado en cestodos y ausente en vertebrados que representa un potencial blanco selectivo de drogas. El objetivo de este trabajo es lograr el

silenciamiento *in vitro* de miR-71 en tetratiridios (estadio larvario de *M. vogae*) e identificar sus genes blanco. Además, se pretende analizar los efectos del silenciamiento en el desarrollo y la capacidad de infección.

Se utilizaron anti-miRs (oligonucleótidos complementarios al miRNA que bloquean su función) para el silenciamiento. La predicción de genes blanco se realizó con algoritmos bioinformáticos y la expresión de miR-71 y de sus genes blanco se cuantificó por RT-qPCR. Se evaluó la estrobilización por inducción con taurocolato de sodio. Finalmente, se inocularon parásitos previamente silenciados en ratones BALB/c para analizar el efecto en la capacidad de infección.

La transfección con anti-miR-71 produjo un silenciamiento de miR-71 del 64%, siendo el primer reporte de silenciamiento de miRNAs en cestodos. Entre los genes blanco se encontraron factores de transcripción relacionados con desarrollo. Se observó una mayor tasa de estrobilización en parásitos tratados con anti-miR-71, sugiriendo que miR-71 regula genes relacionados con este proceso. En ratones inoculados con parásitos con miR-71 silenciado la masa parasitaria obtenida fue tres veces menor que en los controles, sugiriendo que miR-71 tiene efecto en la capacidad de infección.

Estos resultados brindan conocimiento sobre la función de los miRNAs en la biología de parásitos cestodos y sientan la base para el análisis de su potencial como blancos de drogas de enfermedades parasitarias desatendidas.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO VI:

Abordaje bioinformático para el análisis de protozoos parásitos

BMC-056

Descripción de nuevos RNA no codificantes largos para el parásito *Toxoplasma gondii*.

Vanagas, Laura; Labella, Gino; Cristaldi, Constanza; Ganuza, Agustina; Ángel, Sergio y Alonso, Andrés

Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM), Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM), Chascomús, Buenos Aires, Argentina

email: amalonso@intech.gov.ar

Los RNA no codificantes largos (lncRNA, del *inglés long non coding RNA*) se definen como RNA mayores a 200 nucleótidos los cuales no son traducidos a proteínas funcionales. En organismos eucariotas es conocido su rol en variedad de procesos celulares los cuales incluyen la regulación de la transcripción, diferenciación y reprogramación celular; incluso se ha determinado el rol de estos RNA en el desarrollo de diferentes patologías humanas. Si bien la mayoría de los lncRNA comparten similitudes con los RNA codificantes como transcripción mediada por ARN polimerasa II, cap-5' y 3' poly (A); los análisis comparativos revelan que los lncRNA no son bien conservados entre especies lo cual dificulta su predicción y caracterización funcional. En el campo de la parasitología, sólo algunos estudios revelan la existencia de lncRNA en protozoarios como *T. cruzi* y *P. falciparum*. Por otro lado, se ha documentado la existencia de dos potenciales RNA no codificantes implicados en la regulación de la diferenciación celular del parásito *T. gondii*. Bajo este contexto y con el objetivo de profundizar en el estudio de lncRNA de *T. gondii*, se analizaron transcriptomas para los estadios de taquizoito y bradizoito del parásito mediante un protocolo bioinformático propio, diseñado para la predicción de lncRNA. Nuestro análisis predijo 656 transcriptos sin potencial de codificación, mientras que el análisis diferencial de estos transcriptos arrojó que 214 serían sobreexpresados en el estadio de bradizoito en comparación con el estadio de taquizoito. Finalmente, nuestros estudios experimentales confirmaron la transcripción de algunos de estos potenciales lncRNA durante la diferenciación del parásito.

IyV-067

Identificación de epitopes T de *Babesia bovis* mediante estrategias inmunoinformáticas

Magali N Valenzano¹, Beatriz Valentini², María E Eirin¹, Valeria N Montenegro¹, Natalia D Pin viso¹, Morten Nielsen³, Silvina E Wilkowsky¹

¹IABIMO INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ²EEA INTA Rafaela, Rafaela, Argentina. ³Universidad Técnica de Dinamarca, Kgs. Lyngby, Denmark

La babesiosis bovina es una infección causada por los parásitos protozoarios *Babesia bovis* y *B. bigemina* los cuales son transmitidos por la picadura de garrapatas presentes en el NOA y NEA. Ambas especies desarrollan su ciclo vital en el bovino exclusivamente dentro del eritrocito. La respuesta inmune a la infección es de tipo dual con producción de anticuerpos neutralizantes y una respuesta Th1. La identificación racional de epitopes T presentados por las células bovinas resulta fundamental para su inclusión futura en vacunas multiepitópicas de diseño racional como alternativas superadoras a la vacuna viva atenuada usada actualmente. Con este objetivo realizamos la predicción inmunoinformática de epitopes T de una cepa patógena argentina de *B. bovis*. En primer lugar, secuenciamos por la plataforma Illumina el genoma de la cepa local patógena S2P. Por otro lado, con el fin de seleccionar de manera racional aquellos genes cuyas proteínas puedan potencialmente despertar una respuesta inmune frente al parásito, diseñamos un algoritmo predictivo en base al análisis del transcriptoma publicado de una cepa de EE.UU, considerando variables como la presencia de péptido señal, la ausencia de dominios transmembrana y la sobreexpresión de más de 20 veces el estadio sanguíneo del parásito, entre otras. Este algoritmo fue aplicado a la cepa secuenciada y nos permitió contar con una lista de 40 genes candidato. En base a la traducción in silico de los 40 genes candidatos se realizaron las predicciones de epitopes T utilizando el programa NetBoLAllpan. Los 41 con score menor a 1% fueron sintetizados y validados in vitro por

ELISA midiendo la liberación de IFN- γ en la sangre de bovinos infectados con *B. bovis* y estimulados con estos péptidos. Como resultado identificamos 7 péptidos T provenientes de 6 proteínas del parásito capaces de inducir una respuesta inmune de perfil Th1 contra este patógeno y con potencial para ser incluidos en futuras vacunas multiepitópicas.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO VII: Interacción parásito - célula hospedadora

IPH-014

Comportamiento *in vitro* del aislamiento no clonal *TgHm 12-1Arg* de *Toxoplasma gondii* en células epiteliales (VERO) y trofoblásticas humanas (JEG-3).

Mariana Bernstein^{1,2}, Elisa Helman^{1,2}, Juan Manuel Unzaga¹, María Cecilia Venturini¹, Gastón Moré², Lais Pardini^{1,2}

¹LAINPA, La Plata, Argentina. ²CONICET, Buenos Aires, Argentina

La estructura poblacional de *T. gondii* en Sudamérica muestra una alta diversidad genética con presencia de genotipos no-clonales. Actualmente, no existe un genotipo predominante y la correlación entre genotipo no-clonal y virulencia se desconoce. El objetivo de este estudio fue evaluar la invasión (INV) y replicación (REP) *in vitro* del aislamiento no-clonal *TgHm12-1Arg* (ToxoDB #285) obtenido de un caso de toxoplasmosis congénita humana en Argentina. Se realizaron ensayos *in vitro* sembrando células VERO, epiteliales de mono, y JEG-3, trofoblásticas humanas, en placas de 24 pocillos (10^5 células/pocillo) y se infectaron con taquizoítos del aislamiento *TgHm12-1Arg* (10^5 taquizoítos/pocillo). Las placas se incubaron durante 6 y 18 h a 37°C. Se realizó 1 ensayo con 3 réplicas para cada tiempo de corte y para cada tipo celular y se visualizaron mediante inmunofluorescencia. La INV y REP se determinaron contando las

vacuolas parasitóforas (VP) y el número de taquizoítos/VP, respectivamente. Se analizó con un Modelo Lineal Generalizado (distribución de Poisson). Los resultados mostraron una media de invasión INV de 392 ± 36 y 219 ± 43 en células VERO y JEG-3, respectivamente. La INV a las 6 h resultó significativamente mayor para el tipo celular VERO (ratio 0,55) respecto de las células JEG-3 ($p < 0,001$). La REP mostró una media de 303 ± 76 y 510 ± 140 en células VERO y JEG-3, respectivamente. La REP a las 18 h resultó significativamente mayor para el tipo celular JEG-3 (ratio 1,68) respecto de las células VERO ($p < 0,001$). Se ha asociado en estudios previos mayor replicación *in vitro* con mayor virulencia en modelo murino, la mayor tendencia del aislamiento no-clonal *TgHm12-1Arg* a replicarse en células de placenta podría ser un indicador de virulencia para infecciones congénitas humanas. El estudio de otros genotipos principalmente no-clonales obtenidos de casos de toxoplasmosis congénita serían relevantes para determinar el comportamiento de estos durante la gestación.

IPH-037

Los patrones de motilidad de tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi* se relacionan con la virulencia de distintas poblaciones parasitarias

Maximiliano Cosenza^{1,2}, Yamil E Masip^{1,2}, Valeria Tekiel^{1,2}

¹Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Martín, Buenos Aires, Argentina. ²Escuela de Bio y Nanotecnologías (EBYN), Universidad Nacional de San Martín., San Martín, Buenos Aires, Argentina

La enfermedad de Chagas crónica presenta diferentes manifestaciones clínicas que pueden explicarse parcialmente por el tropismo tisular y virulencia de las cepas parasitarias. Ya que la diseminación parasitaria y la migración intratisular se producen mayormente durante la fase aguda y estarían mediadas por tripomastigotes circulantes, previamente hemos desarrollado modelos de cultivo 3D para estudiar estos procesos. Tripomastigotes

de cepas virulentas (ej. RA) transmigran hasta 50 μm dentro de esferoides de células epiteliales, mientras que cepas de baja virulencia (ej. K98) se mantienen en la superficie.

Dado que en otros microorganismos la capacidad de migración y diseminación *in vivo* se ha relacionado con la motilidad parasitaria, nos propusimos evaluar la motilidad de tripomastigotes de cepas con distinta virulencia en matrices de colágeno-I 3D, que imitan el entorno tisular extracelular. El desplazamiento de ~900 tripomastigotes fue registrado por microscopía time-lapse (2 imágenes/seg por 1 min), y se clasificaron en persistentes (movimiento rectilíneo), tumblers (movimiento no direccionado) e intermitentes (alternan entre los dos patrones de motilidad). El 93,3% de tripomastigotes de la cepa K98 eran tumblers, mientras que la cepa RA presentó un 14% de parásitos persistentes, 35,2% intermitentes y 50,9% tumblers. Luego, a partir de un ensayo de nado libre, se aislaron sub-poblaciones de la cepa RA con alta (*fast*) o baja (*slow*) capacidad de nado, y se determinaron los patrones de motilidad. Tripomastigotes *fast* estaban enriquecidos en parásitos intermitentes (65,5%) y persistentes (27,5%), mientras que el 85,2% de los tripomastigotes *slow* presentaban motilidad tumbler. La subpoblación *fast* presentó mayor infectividad *in vitro*, y virulencia *in vivo* (75% de mortalidad y mayores parasitemias). Estos resultados sugieren una relación entre la motilidad de tripomastigotes y la virulencia de las distintas cepas/poblaciones de *T. cruzi*.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO VIII:

Diagnóstico de infecciones parasitarias

DyT-061

Evaluación del desempeño diagnóstico de una nueva qPCR para la confirmación de casos agudos y crónicos de babesiosis bovina por *Babesia bovis*

Valeria N Montenegro¹, Magali N Valenzano¹, Agustina E Perez², Ludmila Lopez Arias², Eliana C Guillemi¹, Patricia Zimmer³, Nestor Sarmiento⁴, Carla Pertile⁴, Marcos Trangoni¹, Marisa Farber¹, Silvina E Wilkowsky¹

¹ABIMO INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

²Universidad de Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

³EEA INTA Formosa, Formosa, Argentina. ⁴EEA INTA Mercedes, Mercedes, Corrientes, Argentina

El diagnóstico directo de la babesiosis y anaplasmosis bovina se realiza habitualmente por observación microscópica de un frotis teñido con Giemsa. Sin embargo, las infecciones crónicas de estos hemoparásitos cursan con parasitemias extremadamente bajas (< 1%) y este método posee muy baja sensibilidad. Por su parte, la PCR si bien es altamente sensible, no permite discriminar si la presencia del patógeno es la causa del cuadro clínico, debido a la existencia de animales inmunizados con la vacuna viva o portadores crónicos.

En este trabajo desarrollamos una qPCR basada en el gen *rap-1* para la cuantificación de parasitemias por *B. bovis*. Para determinar la sensibilidad analítica, se construyó una curva estándar a partir del fragmento de *rap-1* clonado en un plásmido y se realizó la correlación con una curva de parasitemia conocida. El límite de detección de la qPCR en la curva de plásmido fue de 1000 copias/ul que resultó equivalente a una parasitemia de 0.001%. Para la validación clínica de la qPCR se analizaron muestras de bovinos de zonas enzoóticas para garrapatas de las Pcia. de Corrientes (N=71) y de Formosa (N=59) así como 20 muestras de la Pcia. de Bs. As (zona libre del vector). Todas las muestras se analizaron en paralelo por PCR como *gold standard*. En las muestras positivas por qPCR observamos diferencias estadísticamente significativas (test Tukey-Kramer $p < 0,0001$) en las parasitemias de 14 animales con signología clínica (64.000 a 1.684.770 copias) y 109 animales crónicos sin signos de la enfermedad en los que se determinaron entre 4100 y 52.900 copias. En resumen, la qPCR desarrollada aquí permite no sólo detectar a *B. bovis* sino también cuantificar y relacionar los cuadros clínicos con la parasitemia absoluta permitiendo inferir el curso de la enfermedad y establecer las medidas de control adecuadas.

DyT-080

Comparación de los antígenos SAPA y CP4 de *Trypanosoma cruzi* para el diagnóstico del Chagas vertical basado en estrategias de detección de anticuerpos IgM específicos

María Belén Arduso¹, Luz María Peverengo², Laura Jurado^{3,4}, Belén Warszatska^{3,4}, Claudio Berli⁵, Jaime Altcheh^{3,4}, Iván Marcipar², Nazarena Pujato²

¹Laboratorio de Tecnología Inmunológica (LTI, FBCB-UNL), Santa Fe, Argentina. ²Laboratorio de Tecnología Inmunológica (LTI, FBCB-UNL-CONICET), Santa Fe, Argentina. ³Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina. ⁴Instituto multidisciplinario de Investigación en Patologías Pediátricas (IMIPP) CONICET-GCBA, Buenos Aires, Argentina. ⁵Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC-UNL-CONICET), Santa Fe, Argentina

Las infecciones verticales por *Trypanosoma cruzi* (CHv) pueden tratarse con antiparasitarios con una alta efectividad durante los primeros años de vida del niño. Sin embargo, las barreras de accesibilidad a los servicios de salud y las limitaciones del algoritmo diagnóstico demoran la confirmación de los casos y dificultan el control de esta vía de transmisión. Lograr el diagnóstico certero y precoz, especialmente mientras el recién nacido permanece en el hospital, es clave para asegurar su salud.

El antígeno SAPA del parásito ha sido ampliamente propuesto para la detección del CHv, pero no hay antecedentes de su uso como blanco en la determinación de anticuerpos (Acs) IgM. Además, a pesar de que los IgM son un biomarcador temprano efectivo de infecciones en recién nacidos, escasos autores han abordado una estrategia de detección del CHv basada en la determinación de estos Acs. Nuestro grupo, ha desarrollado previamente un ELISA IgM empleando el antígeno quimérico CP4 diseñado y obtenido en nuestro laboratorio. El presente trabajo tuvo por objetivo comparar el desempeño de SAPA y CP4 en el diagnóstico del CHv, empleando ELISAs de captura de IgM (CP4-capELISA vs SAPA-capELISA) y ELISAs indirectos (CP4-iELISA vs SAPA- iELISA). Se analizó un panel de sueros de bebés con menos de 60 días de nacidos, con resultado positivo (n= 12) o negativo (n= 17)

para CHv según el algoritmo diagnóstico. CP4-capELISA y CP4-iELISA resultaron con el mayor rendimiento diagnóstico, dando una sensibilidad (Se) y especificidad (Es) del 100%, seguido por SAPA- iELISA (Se= 50,0% y Es= 92,9%) y SAPA-capELISA (Se= 58,3% y Es= 70,9%).

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO IX: Epidemiología y Vectores

PSA-006

Parasitosis intestinal en pacientes atendidos en el CENPETROP (Corrientes, Argentina) durante el periodo 2022-2023

Mirta Liliana Mierez¹, Raúl Ricardo Encina², Adriana Ines Fleitas³, Griselda Soledad Serracani³, Osvaldo David Benítez³

¹CENPETROP- FAC DE MEDICINA-UNNE, CORRIENTES, Argentina. ²CENPETROP- FAC. DE MEDICINA-UNNE, CORRIENTES, Argentina. ³CENPETROP - FAC. DE MEDICINA-UNNE, CORRIENTES, Argentina

Las enteroparasitosis pueden provocar manifestaciones clínicas importantes, agravar procesos mórbidos o aumentar la mortalidad de poblaciones susceptibles, además están estrechamente vinculadas a desigualdades económicas y sociales.

El objetivo de esta investigación fue analizar la infección por enteroparásitos en solicitudes coproparasitológicas de pacientes derivados de Centros de Salud, públicos o privados, al CENPETROP durante el periodo 2022-2023 y los motivos de consulta vinculados.

Estudio observacional descriptivo de corte transversal que incluyó a varones y mujeres de todas las edades con sospecha clínica de parasitosis intestinal, asintomáticos, con alteraciones del hemograma (anemia/eosinofilia) y/o inmunodeprimidos. Las heces se procesaron con técnica de concentración por sedimentación espontánea. Se examinaron 66 muestras (62% mujeres y 25% varones). Un 41%(n=27) presentó infección enteroparasitaria, siendo el protozoo

más frecuente *Blastocystis hominis* en un 66%, *Giardia lamblia* 7%, y comensales como *Entamoeba coli* 15% y *Endolimax nana* 11%. Los helmintos identificados fueron: *Enterobius vermicularis* en un 15%, *Strongyloides stercoralis* 11%, *Hymenolepis nana* 3% al igual que uncinarias. No se encontraron parásitos en el 59%(n=39).

El 22%(n=7) presentó poliparasitosis, siendo *Blastocystis hominis* el protozoo asociado en un 100% a otros enteroparásitos.

Dolor abdominal, prurito anal y diarrea fueron los motivos de consulta más frecuentes (37%, 33% y 26% respectivamente), asociados principalmente a *Blastocystis*. *Strongyloides stercoralis* se encontró en inmunosuprimidos no asociado a síntomas gastrointestinales.

Los pacientes parasitados presentaron eosinofilia en un 48% y anemia en un 4%, ambos asociados a *Blastocystis*.

El parásito más frecuentemente encontrado fue *Blastocystis hominis*, tanto en pacientes mono como poliparasitados. También se lo encontró asociado con los motivos de consulta y las alteraciones en el hemograma más frecuentes.

BMC-010

Tipificación de *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangre de pacientes con Chagas de la provincia del Chaco utilizando secuenciación profunda de la región hipervariable de los minicírculos (mHVR)

Anahí Guadalupe Díaz, Fanny Rusman, Noelia Florida-Yapur, Tatiana Ponce, Patricio Diosque, Nicolás Tomasini

IPE-CONICET, Salta, Argentina

Trypanosoma cruzi muestra una marcada diversidad genética y es clasificado en seis Unidades de Tipificación Discretas (DTUs), TcI-TcVI. Anteriormente, se ha propuesto un método de tipificación basado en secuenciación profunda de la región hipervariable de los minicírculos (mHVR) y se desarrollaron sets de secuencias representativas de mHVR de los seis linajes que pueden ser utilizados para tipificar muestras

secuenciadas con la misma tecnología. En el presente trabajo optimizamos este método de tipificación para su utilización en muestras de sangre. Para esto se estudiaron 28 muestras de pacientes crónicos con enfermedad de Chagas de la provincia del Chaco. Estas muestras fueron previamente estudiadas por medio de Southern-blot con sondas de mHVR de diferentes DTU. Las librerías se construyeron en dos reacciones consecutivas (adicción de adaptadores e índices), y posteriormente se secuenciaron por la plataforma NovaSeq de Illumina. Para el procesamiento de los datos se diseñó un script para su uso en Google Colab. Los resultados fueron comparados con la tipificación por Southern-blot. El método de tipificación propuesto consiguió tipificar el total de las muestras (28/28), mientras que Southern-blot lo hizo en 22/28. TcV fue identificado como linaje más abundante en 25 muestras, TcVI en dos y TcI en una. Además, estos dos últimos linajes fueron identificados en menor abundancia en varias de las muestras estudiadas. En cuanto a las comparaciones con la técnica de Southern-blot, ambas técnicas coinciden en la tipificación de la mayoría de las muestras como TcV, aunque se observaron discordancias con los otros linajes. Estos resultados demuestran que la secuenciación profunda de amplicones de mHVRs resultan un método prometedor para la tipificación en muestras biológicas.

EyV-073

Leishmaniasis Visceral Canina: Actualización de la Situación en el Norte de Uruguay.

Dinora Satragno¹, Florencia Mosquillo¹, Yester Basdmajian², Lorenzo Verger^{1,3}, Gabriela Willat³, Fabiano Borges Figueredo⁴, Carlos Robello⁵, Paula Faral-Tello⁵

¹Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ²Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ³Ministerio de Salud Pública, Montevideo, Uruguay. ⁴Fundación Osvaldo Cruz, Río de Janeiro, Brazil. ⁵Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

Las leishmaniasis son un conjunto de enfermedades zoonóticas causadas por protozoarios del género *Leishmania spp.* Más

de 20 especies son patógenas de mamíferos y se manifiestan de diferentes formas clínicas: cutánea, mucocutánea y visceral. La forma visceral se convirtió en una zoonosis emergente en el Cono Sur de América, con el perro como principal reservorio. Su incidencia, letalidad y dispersión geográfica aumentó de manera preocupante a partir del año 2000 en Paraguay, Argentina y Brasil. En Uruguay, *L. longipalpis* fue capturado por primera vez en las ciudades de Bella Unión (BU) y Salto en el año 2010, y en febrero de 2015 se confirmó la transmisión autóctona de Leishmaniasis Visceral Canina (LVC) en el departamento de Salto, paraje Arenitas Blancas. A partir de ese momento se desarrolla la vigilancia activa a cargo del MSP, Comisión de Zoonosis y UdelaR. A partir de la denuncia de caso sospechoso de LVC se realizan los test serológicos (DPP y rk39), se confirma mediante diagnóstico directo (parasitológico y molecular), se muestrean 100 caninos del área peridomiliar, y se colocan trampas de captura de flebotomos para posterior estudio de especie y de parásitos. En diciembre de 2018 fue confirmado y notificado ante el Ministerio de Salud Pública (MSP) el primer caso autóctono de Leishmaniasis visceral en una niña de 5 años, y en enero de 2019 se confirma la primera muerte.

Los datos de prevalencia realizados en las ciudades de Salto y BU en los años 2020 y 2021 fueron de 4,20% y 6,8%, respectivamente. El análisis de recientes brotes en la ciudad de Artigas en 2022 en la zona urbana fue de 1,7% (DPP) y 0,8% (rk39), y en el área suburbana 23,6% (DPP) y 11,8% (rk39). En la ciudad de Rivera, se encontró un 3,5% y 7,1% de casos positivos en las regiones de Lagunón y Caqueiro, respectivamente.

En la actualidad, LVC se encuentra en amplia expansión, siendo la localidad de Chapicuy, departamento de Paysandú, su localización más austral en el continente americano.

EyV-112

Xenointoxicación de *Triatoma infestans* usando a gatos domésticos como fuente alimenticia

en un área rural del Chaco Argentino

Camila Vázquez Cañas, María S Gaspe, Gustavo F Enriquez, Damián Sanchez, Delfina Trezza Neumayer, Bárbara L Ojeda, Santiago Piñero, Marta V Cardinal

Laboratorio de Eco-epidemiología, FCEN, UBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

El Gran Chaco es una región hiperendémica para la enfermedad del Chagas, con elevados niveles de infestación de las viviendas por *Triatoma infestans* y de transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi*. Perros y gatos son importantes reservorios domésticos de *T. cruzi* y factores de riesgo para la infección de vectores y humanos, como así también, potenciales blancos para la xenointoxicación. El objetivo de este estudio es determinar la eficacia y duración del efecto triatomicida de ectoparasiticidas aplicados en gatos domésticos en el Municipio de Pampa del Indio, Chaco. Se seleccionaron 25 gatos rurales, un animal por vivienda, mediante un diseño aleatorizado por grupos. Se aplicaron 3 ectoparasiticidas: Bravecto (Fluralaner), Power (spinosad) y Power met (Imidacloprid) y 2 controles acordes a las formulaciones empleadas (spoton y comprimido). Se asignaron 5 réplicas por grupo. Se expusieron triatominos de III, IV y V estadio, susceptibles (S) y resistentes (R) antes de la administración del tratamiento (T0) y a los 3-4 días del mismo (T1) durante 20 minutos. Se registró mortalidad (%) y grado de intoxicación (para T1) desde el día 0 al 5 y luego dos veces por semana durante 4 semanas. La mortalidad acumulada a las 72 hs en los triatominos según tipo (S vs. R) fue del 65% y 72% en Bravecto, 43% y 35% en Power, 3% y 0% en Power met, de 4% y 5% en agua y 6% y 4% en comida, para susceptibles y resistentes, respectivamente. El porcentaje acumulado hasta los 20-23 días fue de un 88% y 80% en Bravecto, 70% y 48% en Power, 13% y 12% en Power met, de 7% y 10% en agua y 9% y 12% en comida, según tipo (S vs. R) respectivamente. Estos resultados preliminares avalarían el uso de Fluralaner para la xenointoxicación usando gatos domésticos como herramienta suplementaria a las ya existentes, ante la emergencia de diferentes

niveles de resistencia a los piretroides registrados en las poblaciones de *T. infestans*.

COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO X: Inmunología

IyV-082

Análisis funcional del receptor CD46 en la población de linfocitos T en muestras de pacientes con enfermedad de Chagas crónica

María Belen Caputo¹, Josefina Elias¹, Gonzalo Cesar¹, María Gabriela Alvarez², Bruno Lococo³, Susana Laucella¹, María Cecilia Albareda¹

¹INP Dr M Fatala Chaben, CABA, Argentina. ²HIGA Eva Perón, San Martín Prov BsAS, Argentina. ³HIGA Eva Perón, San Martín Prov BsAS, Argentina

Las moléculas efectoras del sistema de complemento producidas en las células T participan en la modulación de varias funciones como la activación, diferenciación, metabolismo y homeostasis de las células T. CD46 es una proteína transmembrana que inicialmente se descubrió como regulador del complemento y luego determinaron que tiene un importante rol como molécula coestimuladora las células T humanas regulando las respuestas Th1. En este trabajo estudiamos la función de CD46 evaluando la producción de IFN-g, IL2, IL10 y la expresión intracelular de los receptores C3aR y C5aR en la población de linfocitos T CD4+ y CD8+ utilizando citometría policromática. Para ello estimulamos células mononucleares periféricas de pacientes asintomáticos crónicamente infectados con *T. cruzi* (n=8) y controles (n=4) durante 20-24hs con los anticuerpos CD3, CD28 y/o CD46 así como también inhibimos el receptor CD46 con un inhibidor de CTLs. Los resultados preliminares muestran una mayor producción de IFN-g en la población de linfocitos T CD4+ y CD8+ luego de la estimulación con CD3/CD8/CD46 comparado con CD3/CD28 y la producción se inhibe incubando con el inhibidor, tanto en los

pacientes crónicamente infectados como en los controles. Si bien no encontramos diferencias significativas entre los pacientes y los controles hay una tendencia a una menor producción de IFN-g en los pacientes asintomáticos comparado con los controles. No se encontró una mayor producción de IL2 ni IL10 luego de la estimulación en la población de linfocitos T en el grupo de pacientes estudiados. Teniendo en cuenta la importancia de una buena respuesta Th1 para el control del parásito y el rol del CD46, estos resultados preliminares muestran la importancia de incluir un mayor número de pacientes para poder estudiar la importancia de la molécula CD46 en el contexto de la infección con el *T. cruzi*.

IyV-107

Estudio de dosis de candidato vacunal basado en adenovirus de serotipo raro para la infección por *Trypanosoma cruzi*

Sebastián N Trinitario¹, María A Delfino^{1,2}, Polina Dzvonyk¹, Rocío Cenizo¹, Alejandro C Cardoso², Eduardo A. Gimenez¹, Emilio L Malchiodi², Natacha Cerny¹, Augusto E Bivona^{2,1}, Andrés S Alberti¹

¹IMPAM, CABA, Argentina. ²IDEHU, CABA, Argentina

Trypanosoma cruzi es el protozoo flagelado causante de la Enfermedad de Chagas, una enfermedad tropical desatendida que afecta entre 6 y 7 millones de personas en todo el mundo y para la cual aún no se dispone de una vacuna efectiva y segura.

Con el objetivo de generar una fuerte respuesta inmune celular se desarrolló un Adenovirus 48 no replicante capaz de realizar delivery génico de traspaina, un antígeno quimérico previamente validado como vacuna anti-*T. cruzi*. Para determinar la dosis óptima de la nueva formulación, se realizó un estudio de comparación de dosis evaluando inmunogenicidad y marcadores de reactogenicidad.

Para esto se inmunizaron por vía intramuscular ratones C3H hembras con dos dosis de: I) Placebo (PBS), II) 1x10⁶ UFP Ad48-trasp, III) 1x10⁷ UFP Ad48-trasp, IV) 1x10⁸ UFP Ad48-trasp, V) 1x10⁹ UFP Ad48-trasp y VI) Traspaina-

CDA (10 ug – 50 ug). Para evaluar la seguridad, se realizó un seguimiento del peso de los animales y se midieron los niveles de IL-6 sérica 24 horas post inmunización por ELISA. La respuesta humoral fue evaluada por ELISA indirecto, mientras que la respuesta celular se analizó por citometría de flujo con ensayos de marcación intracelular de citoquinas (ICS) y marcadores inducidos por activación (AIM).

Interesantemente, no se observaron cambios significativos en la variación de peso ni en los niveles de IL-6 con ninguna de las dosis evaluadas. Por el contrario, se detectó una asociación positiva entre el aumento de dosis y los niveles de IgG antígeno-específica, así como también en la activación y producción de IL-2, TNF- α e IFN- γ por parte de linfocitos T CD4+ y CD8+ re-estimulados con Traspáina. Mas aún, la respuesta celular obtenida con las mayores dosis fue ampliamente superior a la generada con el candidato de referencia (Traspáina-CDA).

Considerando esto, la mayor dosis analizada resulta superadora en términos de su inmunogenicidad y perfil de seguridad.



PÓSTERS

BMC-Biología Molecular y Celular

BMC-002

Paradoxical Pharmacology Effect of Resveratrol against Echinococcosis

Micaela Franco^{*1}, Julia A. Loos^{*2}, Rocio Rivis², Maia Chop³, Christian R. Rodrigues³, Andrea C. Cumino (*equal contribution)²

¹Hospital Interzonal General de Agudos "Dr. Oscar E Alende", Mar del Plata, Argentina. ²IIPROSAM, UNMdP, Mar del Plata, Argentina. ³Departamento de Química y Bioquímica (UNMdP), Mar del Plata, Argentina

Resveratrol (Rsv) is a phytoalexin with antibacterial, anticancer and antiparasite properties. We analyzed for the first time the pharmacological effects of resveratrol (Rsv) on *Echinococcus granulosus sensu lato* complex and *E. multilocularis*. *In vitro* treatment with 50 and 100 μM Rsv reduced the viability of *E. granulosus* metacestodes and protoscoleces by at least 75% after 4 and 13 days, respectively. Rsv treatment caused deleterious ultrastructural effects in metacestodes, increased the transcription of autophagy genes, and raised Eg-Atg8 expression while suppressed Eg-TOR, leading to autophagy and parasite death. However, the intraperitoneal administration of Rsv ($100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) was not only ineffective, but also promoted parasite development in mice with cystic and alveolar echinococcosis. We also showed in early alveolar echinococcosis treated with Rsv a hematopoietic stem cell expansion followed by their differentiation towards dendritic cells (BMDCs), with CD80, CD86 and MHCII induction. BMDCs from early stage of AE infection produce high gene expression levels of IL-6 and TGF- β , which could determine T cell activation and polarization to Th17 subset, characteristic of the immune response during early infection phase. Contrarily, BMDCs from Rsv-treated AE mice inhibited-transcription of IL-6 ($p < 0.01$), TNF α ($p < 0.05$), TGF β ($p < 0.05$) and IL-10 ($p < 0.05$), as well as it provoked a reduction of LPS-stimulated BMDC activation in comparison with control BMDCs, provoking an anti-inflammatory response in BMDCs from Rsv-treated mice. We suggest that Rsv ineffectiveness could be caused by the low

intracystic concentration ($\approx 30 \pm 2 \mu\text{M}$) achieved in vivo and the drug's hormetic effect, which accounts for the opposite anti-parasitic and immunomodulatory responses at different doses. Therefore, our assays do not allow us to propose to the RSV as a drug for the treatment of CE neither AE, due to it was perhaps not delivered and accumulated in the parasite in optimal amounts.

BMC-008

Abordajes genómicos en Una Salud en SudAmérica: aplicación de plataforma Oxford Nanopore (ONT) presente en Argentina para secuenciación de parásitos helmintos y otros organismos

Natalia Macchiaroli¹, Ines Sanañez¹, Lucas Federico Arce², Gisela Franchini², Laura Kamenetzky¹

¹IB3, CABA, Argentina. ²INBIOLP, La Plata, Argentina

La actividad humana desarrollada en las reservas naturales afecta el estado de salud de la vida silvestre. En nuestro país, el parásito *Diocotophyme renale* considerado el nematodo parásito más grande de los vertebrados terrestres, se encuentra principalmente en perros que viven cerca de ambientes acuáticos con alto riesgo de causar infecciones en las poblaciones humanas. El gusano adulto se desarrolla en el riñón de los mamíferos, destruyéndolo por completo, siendo una enfermedad humana potencialmente letal y afectando a animales domésticos y silvestres. Los únicos métodos disponibles para el diagnóstico de la infección son el análisis de orina, ecografía, cirugía o necropsia. La baja sensibilidad y especificidad de estos métodos conduce a falsos negativos y la escasa disponibilidad de secuencias de ADN en las bases de datos complica esta situación. Este parásito también afecta a especies silvestres entre ellas al aguará guazú (*Chrysocyon brachyurus*), cánido más grande de América del Sur presente en la lista de especies amenazadas (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas, CITES). Es por ello que la diocotofimosis causada por *D. renale* actualmente se incluye entre los

peligros para la salud en las poblaciones silvestres. Existe muy poca información sobre la base molecular de este organismo. La obtención de datos genómicos mediante la plataforma de secuenciación MinION disponible en nuestro laboratorio nos permitió obtener el primer Mitogenoma de esta especie en menos de 1 semana de trabajo, rápidamente hemos diseñado marcadores mitocondriales para la cuantificación de la variabilidad genética parasitaria y hemos analizado muestras provenientes de animales domésticos y silvestres. Las estrategias de Genómica Comparada nos permitieron esclarecer el grado de identidad entre poblaciones de parásitos y determinar secuencias específicas que contribuirán al conocimiento biológico y al desarrollo de métodos de diagnóstico específicos de las especies

BMC-009

Expresión y caracterización de dos proteínas SRS de *Neospora caninum*

Soledad E Echeverría¹, Florencia Ruppel¹, Federico Carrion², Marco Li Calzi³, Ramiro Tomassina^{1,4}, Otto Pritsch², Andres Cabrera^{1,4}, Carlos Robello^{1,5}

¹LIHP, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. ²UBP, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. ³LGF, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. ⁴Departamento de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay. ⁵Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

Neospora caninum es un parásito apicomplejo intracelular obligado, causante de la neosporosis, principal causa de aborto en el ganado bovino a nivel mundial. En el estudio de los mecanismos moleculares de patogénesis, las proteínas SRS juegan un papel fundamental en la interacción con el hospedero.

Las SRS constituyen una familia de proteínas características de coccidia que fueron descritas por primera vez en *Toxoplasma gondii*. Son proteínas de superficie que en su mayoría presentan un anclaje GPI. En estudios recientes en los genomas de *T. gondii* y *N. caninum* se ha encontrado que esta familia presenta una expansión en *N. caninum*. Sus

funciones han sido relacionadas a la adhesión del parásito a la célula hospedera, la interacción y modulación del sistema inmune, y en mantener la estructura de la membrana del quiste, entre otras.

Nuestro trabajo se desarrolla con dos proteínas, denominadas Ncp36 y Ncp35, ortólogas de las proteínas SAG1 y SRS2 de *T. gondii*, respectivamente. Ambas proteínas se obtuvieron de forma recombinante, soluble y estable en células de *Drosophila melanogaster*, se purificaron y caracterizaron mediante ensayos bioquímicos, inmunofluorescencia y métodos computacionales. Se encontraron evidencias de su secreción a través de vesículas, llegando al entorno extracelular donde están presentes en forma soluble. Continuamos trabajando en su caracterización estructural y funcional, así como en ensayos de ELISA y protección.

BMC-012

Estudio de RNAseq y proteómica de líneas sobreexpresantes de los dominios GAF y TIP41 de la proteína *free R* metionina sulfóxido reductasa y la proteína TAP42 de *Trypanosoma cruzi* Dm28c

Gonzalez LN¹, Sanz C², Robello CA², Cantoia A³, Rosano G³, Cecarelli E³, Iglesias AA¹, Arias DG¹

¹ Laboratorio de Enzimología Molecular, IAL (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina, ² Laboratorio de Interacciones Hospedero Patógeno, IP, Montevideo, Uruguay, ³ Unidad de espectrometría de masas – IBR (CONICET-UNR), Santa Fe, Argentina. nadia.lihue@gmail.com

Trypanosoma cruzi es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas y a través de un análisis de su genoma, identificamos una secuencia codificante para la enzima metionina sulfóxido reductasa libre (*fRMSR*). En *T. cruzi*, esta proteína está constituida por un dominio de tipo GAF (*fRMSR_{GAF}*) fusionado al dominio TIP41 (*fRMSR_{TIP41}*), el cual es homólogo a TIP41 de levadura y está involucrado en la regulación negativa de la vía TOR. También se identificó una secuencia codificante para la proteína TAP42, cuya función en *T. cruzi* es desconocida, pero en levaduras forma parte de la regulación

positiva de la vía TOR e interactúa con TIP41. Para su estudio se obtuvieron células de epimastigotes de *T. cruzi* sobreexpresantes de estas proteínas y se caracterizaron fenotípicamente.

Realizamos análisis de RNAseq de epimastigotes sobreexpresantes que mostraron que para la línea sobreexpresante de *fRMSR_{GAF}* se encontraron aproximadamente 150 genes con niveles de transcripto modificado, dentro de los cuales hay diversos genes que codifican para kinasas. En la línea sobreexpresante de *fRMSR_{TIP41}* se encontraron 140 genes, de los cuales algunos presentan niveles de transcriptos disminuidos, como por ejemplo algunos que codifican para proteínas relacionadas al sistema de sumoylación, porinas mitocondriales y a histonas desacetilasas. En cuanto al sobreexpresante de TAP42, los niveles de aproximadamente 100 transcriptos se encontraban modificados, donde uno de ellos corresponde a un aminoácido permeasa.

En forma paralela, se realizó un estudio de proteómica de la línea de epimastigotes sobreexpresantes de TAP42 bajo condiciones basales de cultivo. Se observó que 60 proteínas se encontraban disminuidas y 46 proteínas aumentadas respecto a la línea control. Algunas de las proteínas cuyo nivel se vio modificado se encuentra relacionadas a la vía TOR, a vías de resistencia a estrés oxidativo y a la síntesis de esterol, entre otras. Financiado por ANPCyT (PICT2017-2268).

BMC-015

Efectos de la ivermectina en *Giardia lamblia*: inhibición del crecimiento y mecanismos de muerte celular programada

Florencia N Barzola¹, Jeronimo Laiolo¹, Mariana B Joray², Ximena Volpini¹, Andrea S Rópolo¹, María C Touz¹, Constanza Feliziani¹

¹INIMEC-CONICET-UNC, Córdoba, Argentina. ²IRNASUS-CONICET-UCC, Córdoba, Argentina

Giardia lamblia es un protozoario parásito que causa giardiasis. El tratamiento utilizado ha sido el mismo durante los últimos 50 años y se basa en la administración de drogas derivadas

de nitroimidazol. A pesar de su efectividad, estas drogas conllevan efectos secundarios significativos y la aparición de cepas resistentes. En un estudio reciente, encontramos que la ivermectina (IVM), podría ser eficaz como tratamiento para la infección producida por este microorganismo. Observamos que IVM tenía un efecto letal sobre los trofozoítos del parásito a altas concentraciones. Estos resultados nos alentaron a considerar a este fármaco para el estudio del daño celular y del mecanismo de muerte celular programada (MCP) durante el ciclo celular de *G. lamblia*, teniendo en cuenta especialmente que este organismo carece de mitocondrias. En primer lugar, se determinó cual era la concentración de la droga necesaria para inhibir la proliferación celular en un 50% (CI₅₀). El valor obtenido fue (39,51±6,65) μM y, además, se observó una disminución de la viabilidad celular a medida que aumentaba la concentración del fármaco. Para analizar el mecanismo de MCP, se analizaron las poblaciones celulares marcadas con Anexina V-Alexa 488 e Ioduro de propidio (IP) por medio de citometría de flujo. Los resultados mostraron un aumento significativo de células en apoptosis temprana a concentraciones de 40, 60 y 80 μM de IVM en comparación con el control. Además, las concentraciones más altas de IVM (60 y 80 μM) exhibieron una mayor cantidad de células en apoptosis tardía/necrosis. La electroforesis en gel de agarosa confirmó la degradación del ADN con el aumento de la concentración de la droga. También, se demostró que la droga produce un arresto en la fase S del ciclo celular del parásito. Estos hallazgos confirman que la IVM tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los trofozoítos de *G. lamblia* y que este fármaco induce MCP en este parásito protozoario.

BMC-016

Identificación y evaluación de moléculas potencialmente terapéuticas en un modelo de Ataxia de Friedreich en *Dictyostelium discoideum*

Carolina L. Sartori, Nicolas M. Crivaro, Natalia B. Mazza, Francisco Velazquez, Hernan G. Gentili

Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Translacional (iB3) FBMC-FCEN-Universidad de Buenos Aires, C.A.B.A., Argentina

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 cystein-desulfurasa. En nuestro laboratorio, modelamos esta enfermedad construyendo una cepa deficiente en Frataxina usando el protista ameboide *D. discoideum*. Esta cepa deficiente en frataxina presenta fenotipos que recapitulan algunos de los defectos descritos en células de pacientes, y que son compatibles con disfunción mitocondrial. Entre estos fenotipos se encuentran la disminución de la tasa de crecimiento, el retraso en la progresión del desarrollo multicelular, una mayor sensibilidad al stress oxidativo y la disminución de la actividad de enzimas mitocondriales

Nuestro objetivo es identificar y evaluar distintas moléculas, potencialmente terapéuticas, como base de posibles tratamientos contra dicha enfermedad. Para esto diseñamos cepas reporteras fluorescentes que nos sirven para monitorizar el crecimiento y el desarrollo multicelular en formato multipocillo. Esto nos permitirá, mediante screening, monitorizar de forma sencilla y a gran escala la funcionalidad de Frataxina en *Dictyostelium discoideum*. Esperamos poner a punto las condiciones que nos permita recapitular en este formato y con estos reporteros los defectos observados en la cepa deficiente en Frataxina evaluando fluorescencia. De este modo, poder luego analizar la capacidad de rescate fenotípico en esas cepas, incluso evaluar desde librerías de compuestos. En este trabajo presentamos resultados preliminares de la construcción de estas cepas y de la puesta a punto del ensayo de fluorescencia.

BMC-017

El rol de las histonas acetiltransferasas en el crecimiento

y enquistamiento del parásito *Giardia lamblia*

Rocio Patolsky, Diaz Perez Luciano, Constanza Feliziani, Maria C Touz, Andrea S Ropolo

INIMEC-CONICET-UNC, Cordoba, Argentina

G. lamblia, un protozooario que habita el intestino delgado de humanos, sigue un ciclo de vida simple con dos etapas distintas: el trofozoito, su forma vegetativa, y el quiste, su forma resistente. La adaptación y supervivencia del parásito exigen que el proceso de enquistamiento sea eficiente, posiblemente a través de mecanismos epigenéticos. La acetilación, un mecanismo clave en regulación génica, modifica histonas en lisinas y es regulada por enzimas histona acetiltransferasas (HAT) y desacetilasas (HDAC). En *G. lamblia*, el papel preciso de las enzimas HAT en este proceso aún se desconoce. Por esta razón, proponemos que investigar las enzimas HAT en *G. lamblia* podría ser esencial para entender las adaptaciones en el ciclo de vida del parásito. En nuestro primer acercamiento, realizamos ensayos de qPCR, en células wildtype a diferentes tiempos de enquistamiento. Observamos que tanto MYST2 como GCN5, enzimas de las familias HAT, mostraron un aumento inicial de expresión, seguido de una disminución después de 48-72 horas del enquistamiento. Sin embargo, no detectamos cambios significativos en la expresión de la enzima MYST1 a lo largo del proceso. A partir de estos resultados, podemos inferir que las enzimas HAT desempeñan un papel en la acetilación de histonas durante el enquistamiento. Además, llevamos a cabo otro estudio donde generamos trofozoítos transgénicos que sobreexpresaban enzimas HAT de la familia MYST. Para lograr esto, obtuvimos trofozoítos transgénicos que presentaban una sobreexpresión de las enzimas MYST1 y MYST2. En ambos casos, observamos un crecimiento del parásito significativamente afectado, con una tasa de replicación reducida. Un resultado interesante fue la morfología de las células transgénicas MYST2, donde no se observaba una correcta adhesión a la superficie de contacto. Estos resultados destacan la importancia de investigar las enzimas HAT para comprender

los mecanismos epigenéticos involucrados en el ciclo de vida de este organismo.

BMC-020

Evaluación de estrategias terapéuticas para la Ataxia de Friedreich basadas en proteínas troyanas en el modelo *Dictyostelium discoideum*

Nicolas M. Crivaro, Natalia B. Mazza, Carolina L. Sartori, Francisco Velazquez, Hernan G. Gentili

Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Translacional (IB3) FBMC-FCEN- Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina

La ataxia de Friedreich es una EPOF (enfermedad poco frecuente) autosómica recesiva, esta enfermedad neurodegenerativa presenta una deficiencia en la proteína Frataxina la cual es un activador del súper complejo formador de centros ferro sulfurados mitocondrial. Diversas enzimas del ciclo de Krebs, de la cadena respiratoria, de la reparación del ADN, entre otras, utilizan centros ferro sulfurados como cofactor.

Previamente en el laboratorio observamos que la maquinaria de biogénesis de centros Fe-S esta conservada en *D. discoideum* por lo que nos propusimos generar una cepa de la ameba deficiente en frataxina (denominada CC8) que recapitula algunos de los fenotipos característicos de células de pacientes además de verse afectado en diversos procesos como su desarrollo multicelular. Utilizando CC8 nos planteamos evaluar la efectividad de un tratamiento con frataxinas troyanas humanas. Estas proteínas troyanas contienen un péptido TAT que les confiere la capacidad de entrar a cualquier tipo celular además de una señal de localización mitocondrial (MTS) que le permitiría a la proteína troyana migrar a su sitio de acción una vez ingresada a la célula.

Al incubar a *D. discoideum* con las troyanas se observa por western blot la desaparición del medio extracelular, así como la internalización celular de las proteínas troyanas. Utilizando además microscopia de fluorescencia estamos analizando que porcentaje de la proteína internalizada logra ingresar a la mitocondria.

Por último, una vez obtenidas las condiciones óptimas de internalización de estas proteínas, evaluaremos el grado de rescate fenotípico de la cepa CC8, al tratarla con las frataxinas troyanas observando el comportamiento de la ameba en el crecimiento, el desarrollo multicelular y en la actividad enzimática (aconitasa y succinato deshidrogenasa).

BMC-021

Explorando la división celular de *Neospora caninum* por microscopía de expansión

Ramiro Tomasina^{1,2}, Fabiana C. González¹, Andres Cabrera^{1,3}, Carlos Robello^{1,4}

¹Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. ²Departamento Parasitología Facultad de Medicina , UdelaR, Montevideo, Uruguay. ³Depto. Parasitología y Micología, Facultad de Medicina ,UdelaR, Montevideo, Uruguay. ⁴Departamento de Bioquímica , Facultad de Medicina , UdelaR, Montevideo, Uruguay

Neospora caninum, un parásito perteneciente al filo apicomplexa, es responsable de causar la neosporosis en una variedad de especies animales, resultando en pérdidas económicas sustanciales en la ganadería bovina y en riesgos significativos para la salud en cánidos. Clave para su supervivencia y patogenicidad es el proceso de división celular, el cual ha sido poco explorado en este parásito. En este trabajo, analizamos la división celular de *Neospora caninum* utilizando una combinación de herramientas de microscopía modernas y clásicas. Describimos con detalle la endodiogenia en *Neospora caninum*, detallando la dinámica del ensamblaje celular y la división nuclear mediante técnicas de microscopía de ultraestructura de expansión (UExM), siendo la primera vez que se utiliza esta técnica para este parásito. Además, investigamos la dinámica del centrosoma y los centríolos a lo largo del ciclo celular. Nuestro análisis describe en detalle la división celular en este parásito. Al avanzar en nuestra comprensión de estos mecanismos moleculares, aspiramos a inspirar estrategias innovadoras para el manejo y control de la enfermedad, con el objetivo final de mitigar el impacto de la neosporosis en la salud animal.

BMC-023

Análisis global de la accesibilidad de la cromatina y expresión génica en cepas de *Trichomonas vaginalis* con distinta patogenicidad

Agustina Prat, Daniela Muñoz, Julieta Seifert, Pablo Strobl-Mazulla, Natalia de Miguel

INTECH (CONICET-UNSAM), Chascomús, Argentina

Trichomonas vaginalis es un parásito que coloniza el tracto urogenital humano y causa la infección de transmisión sexual no viral más difundida del mundo. Si bien a menudo es asintomática, en los casos que causa síntomas, estos incluyen vaginitis, prostatitis o uretritis. Existen diferentes cepas de *T. vaginalis* que poseen fenotipos variables en cuanto a su capacidad de agregación, citotoxicidad y adherencia a células del hospedador. Estas diferencias fenotípicas sugieren que la expresión de genes claves para estos procesos se encuentra regulada diferencialmente. Considerando que la epigenética comprende cambios en la estructura y organización del ADN que, sin alterar la secuencia de nucleótidos, modulan la expresión génica y el fenotipo celular; nuestra hipótesis plantea que diferencias epigenéticas y en la estructura de la cromatina podrían ser responsables de los diferentes fenotipos diferenciales observados entre las cepas de *T. vaginalis*. En este contexto, nos propusimos evaluar el rol de la accesibilidad de la cromatina en el control de la expresión de genes en cepas con fenotipos diferenciales. Para esto, realizamos ensayos de ATAC-seq y RNA-seq en una cepa altamente adherente (B7268) y otra poco adherente (NYH209) a células hospedadoras. Los resultados obtenidos demuestran que existe una clara correlación entre la expresión génica y accesibilidad cuando la apertura de la cromatina se da en regiones promotoras y/o en el cuerpo del gen en ambas cepas del parásito. Un análisis comparativo demuestra la existencia de regiones de cromatina accesible diferenciales entre ambas cepas. Específicamente, pudimos identificar regiones accesibles de cromatina y alta expresión en genes asociados a procesos de adherencia y señalización celular en la cepa adherente

B7268. Estos resultados sugieren que la accesibilidad de la cromatina podría estar controlando la expresión de genes importantes en el proceso de patogénesis en *T. vaginalis*.

BMC-026

Establecimiento de *Dictyostelium discoideum* como organismo modelo de estudio aplicado a enfermedades mitocondriales

Natalia Mazza, Carolina Sartori, Nicolás Crivaro, Laura Kamenetzky, Francisco Velazquez-Duarte

Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Traslacional (iB3), Departamento de Fisiología y Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina. E-mail: fvelazquez.ib3@gmail.com

Las enfermedades poco frecuentes (EPOF) son poco conocidas y poco investigadas. Se estima que del total de las EPOF con una causa genética, un 1% corresponden a enfermedades mitocondriales, siendo una de ellas *Autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay* (ARSACS). En este trabajo se plantea la identificación de EPOF mitocondriales que puedan ser modeladas utilizando al protista ameboide *Dictyostelium discoideum* a partir de la búsqueda de genes ortólogos de humanos involucrados en tales EPOFs. El uso de este organismo modelo radica en que su maquinaria molecular está altamente conservada en humanos, se ha secuenciado el genoma completo de varias cepas así como de otras especies de dictiostélidos emparentados, es un organismo de fácil crecimiento y manipulación, y cumple con el principio de las 3R, en referencia a reemplazar, reducir y refinar métodos que sustituyan (o eviten) el uso experimental de metazoarios. Asimismo esta estrategia ya se ha aplicado con éxito por nuestro grupo para el estudio del gen frataxina.

Se integró la información de las bases de datos Orphanet, UniProtKB, ENSEMBL y OrthoMCL para asociar 4487 genes relacionados a EPOFs con los datos de sus respectivas proteínas (longitud, localización subcelular, dominios funcionales, entre otros) y con sus grupos de ortología. Como prueba de concepto

mostramos los datos relativos a ARSACS. Posee un único gen asociado que codifica una proteína llamada saccina, cuyo grupo de ortología contiene 288 genes en eucariotas. En amebozoos se hallaron 6 genes ortólogos de los cuales 3 son de *D. discoideum*. Los alineamientos de las proteínas codificadas por estos genes contra la secuencia de la saccina demostraron que las regiones repetitivas existentes en dicha proteína se encontraban en las de *D. discoideum* con un rango de porcentaje de identidad aminoacídica del 37,8 al 39,3. Este tipo de análisis se realizará sobre todos los grupos de ortología y se utilizará para la selección racional de genes a aplicar en futuros estudios funcionales en *D. discoideum*.

BMC-029

Caracterización genética de *Toxoplasma Gondii* durante el seguimiento a dos casos de pacientes pediátricos trasplantados.

Ledesma, Bibiana A¹; Nigro Mónica G¹; Campos Patricia K¹; Batalla Marcelo²; Analia Julia²; Bernstein, Mariana³; Dellarupe, Andrea³; Pardini Lais³; Venturini Cecilia³.

Departamento de Parasitología, INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran”;² Hospital de Pediatría SAMIC “Prof. Dr. Juan Pedro Garrahan”;³ Laboratorio de Inmunoparasitología-Facultad de Ciencias Veterinaria-Universidad Nacional de La Plata

La gravedad de la toxoplasmosis en el hospedador está relacionada a diferentes factores entre ellos la variabilidad genética del parásito. La estructura genética de *T. gondii* se determinó por el análisis de polimorfismo de distintos marcadores identificando inicialmente 3 linajes clonales. Actualmente, en Sudamérica se conoce una mayor variabilidad genética. En Argentina, se han obtenido cepas de *T. gondii* no clonales a partir de placenta y sangre de cordón de casos de toxoplasmosis congénita humana. Dada la escasa información sobre los genotipos circulantes en humanos, especialmente pacientes trasplantados, el objetivo de este trabajo fue genotipificar *T. gondii* en dos casos de pacientes pediátricos receptores de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas cuyas muestras

fueron derivadas por el servicio de trasplante de médula ósea del Hospital Garrahan. Se realizó el seguimiento en muestras de sangre y/o biopsia de cerebro para la detección temprana del parásito mediante PCR cualitativa, por un periodo de hasta 100 días posteriores al trasplante. Las muestras fueron analizadas por el Depto. de Parasitología, INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran”. La genotipificación se realizó por PCR anidada para los marcadores SAG1, 5’3’SAG2, nSAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c29-2, c22-8, L358, PK1 y Apico. seguida por RFLP. Caso 1: Oriundo de la localidad Leandro Alem, Misiones, con Trasplante de Médula Ósea no relacionado secundario a una Adrenoleucodistrofia, dando como resultado un genotipo no clonal. Caso 2: Oriundo de la localidad de Laferrere, Buenos Aires, con una Leucemia linfoblástica aguda, obteniéndose un genotipo no clonal. Conocer la diversidad genética circulante en nuestro país, especialmente en este grupo de pacientes de riesgo, aportaría información importante sobre el comportamiento del parásito en estos casos y permitiría posteriormente realizar un pronóstico temprano en relación con los genotipos encontrados y las manifestaciones de la enfermedad.

BMC-031

Primer reporte de *Stegophorus* sp. en albatros de aguas uruguayas

Alejandra Navratil¹, Renzo Vettorazzi², Gonzalo Crosi¹, Sebastian Jiménez³, Rodrigo Forselledo³, Andrés Domingo³, María T Armúa-Fernández¹

¹Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

²Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

³DINARA, MGAP, Montevideo, Uruguay

Los nemátodos de la familia Acuaridae (Nematoda: Spirurida) presentan ciclos de vida indirectos que se cumplen enteramente en el medio acuático. Sus hospedadores definitivos (HD) son las aves marinas, mientras que sus hospedadores intermediarios (HI) son pequeños crustáceos. *Stegophorus diomedea* fue inicialmente descrito a partir de ejemplares obtenidos de los albatros *Diomedea exulans*, *Thalassarche melanophris* y *Thalassarche chrysostoma* en Australia. En 1967, se registró y describió nuevamente esta

especie como parásito de *T. melanophris* en Río de Janeiro, Brasil. Posteriormente, se registró la presencia de *S. diomedae* en la pardela parda *Puffinus gravis* en las costas de Florida, Estados Unidos. En 2002, se realizó el primer reporte para Argentina de *Stegophorus* sp., hallándose *S. diomedae* en dos individuos de *T. melanophris* en Península Valdés. Por último, en 2018 se registró la presencia de esta misma especie en un ejemplar *D. exulans* en Rio Grande do sul, Brasil. En este trabajo se reporta el primer registro del género *Stegophorus* Wehr, 1934 en Uruguay. Se examinó el contenido estomacal de 17 albatros capturados incidentalmente en pesquerías industriales. Los mismos pertenecen a tres especies procedentes de Nueva Zelanda (*Diomedea sanfordi* n=6, *Diomedea epomophora* n=4, *Thalassarche steadi* n=2) y dos especies de islas subantárticas del Atlántico sur (*D. exulans* n=2, *T. melanophris* n=3). Los ejemplares de nemátodos recolectados fueron conservados en etanol al 70% para su posterior identificación morfológica. De los especímenes recuperados fue posible identificar morfológicamente nueve ejemplares del género *Stegophorus* en cinco albatros pertenecientes a las tres especies de Nueva Zelanda (*D. sanfordi* n=2, *D. epomophora* n=2, *T. steadi* n=1). Se procedió a realizar la caracterización molecular de tres de los ejemplares recuperados.

BMC-033

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

María Antonella Goyeche, Leticia Perez Diaz

Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias.
UdelaR, Montevideo, Uruguay

Trypanosoma cruzi es un parásito unicelular causante de la enfermedad de Chagas. Durante su ciclo de vida, el parásito alterna entre 2 hospederos, un insecto vector y un hospedero mamífero, atravesando estadios diferenciados. En el insecto se encuentran las formas epimastigota no infectiva y tripomastigota

metacíclico infectiva y en el mamífero se encuentran las formas tripomastigota celular y amastigota intracelular.

Las Amastinas son una familia de proteínas hidrofóbicas con 4 dominios transmembrana identificadas inicialmente en *T. cruzi* y luego en *Leishmania* donde se describieron 4 subfamilias: α -, β -, γ - y δ -amastinas según posición genómica, estructura y evolución. En *T. cruzi* solo se encontraron β -, y δ -amastinas. A través de análisis filogenéticos, nuestro grupo identificó un tercer grupo no reportado en *T. cruzi* (ω -amastinas), con origen más ancestral. Mediante qRT-PCR se constataron niveles de expresión diferencial estadio específico de β -, δ - y ω -amastinas, lo que sugiere que estas subfamilias cumplirían funciones diferentes en el parásito.

El objetivo del trabajo es analizar el rol de las diferentes subfamilias de amastinas en la infección y persistencia. Mediante edición genómica se generarán parásitos carentes de cada uno de los 3 grupos de amastinas para estudiar su función en la infección. Se diseñaron los ARNs guía para dirigir el corte por la enzima Cas9 a regiones cercanas al codón de inicio de los genes de las β -, δ - y ω -amastinas y se clonaron en el vector sgRNA/Cas9/pTREX-n. Se generará el ADN donador, conteniendo el gen de resistencia a hygromicina flanqueado por las regiones 5' y 3' homólogas al gen de interés para cada subfamilia de amastina para sustituir estos genes por el gen de resistencia a higromicina. Se estudiará rol de las amastinas en la infección y persistencia de la misma usando parásitos knock out obtenidos, cuantificando número de células infectadas, amastigotas intracelulares y tripomastigotas celulares emergentes a distintos tiempos.

BMC-034

Endoreplicación del ADN y fisión múltiple en *Tritrichomonas foetus*

Lucrecia S Iriarte, Cristian I Martinez, Natalia de Miguel, Verónica M Coceres

INTECH, Chascomús, Argentina

Tritrichomonas foetus es un protozoario flagelado extracelular y agente causal de la

triticomonosis bovina, la cual provoca fallas reproductivas y por ende considerables pérdidas económicas en la ganadería de diferentes regiones del mundo. En la actualidad no existen herramientas profilácticas y terapéuticas eficientes para el control de dicha enfermedad en los rodeos. *T. foetus* presenta un ciclo de vida monoxeno y se han reportado dos fenotipos diferentes denominados: trofozoítos (piriformes, mononucleados y con flagelos externos) y pseudoquistes (esféricos, multinucleados y con flagelos internalizados); siendo la fisión binaria el único mecanismo de división celular descrito hasta la fecha para este parásito. En el presente trabajo demostramos que *T. foetus* es capaz de endoreplicar su ADN (sin completar el proceso mitótico) en ausencia o deficiencia de nutrientes. Además, observamos que en función de la disponibilidad de dichos nutrientes (escaso o nulo) dichos protozoarios son mononucleados ó multinucleados presentando un mayor contenido de ADN. Finalmente observamos que estas estructuras (mononucleadas ó multinucleadas) son capaces de dividirse mediante fisión múltiple y generar numerosos protozoarios cuando se restituye el aporte normal de nutrientes.

BMC-035

La benztropina como potencial fármaco a reposicionar para matar al parásito *Trypanosoma cruzi*

Melisa Savé, Belén J Maciel, Chantal Reigada, Marcos Rengifo, Fabio diGirolamo, Marianda R Miranda, Claudio A Pereira

IDIM, UBA-CONICET, CABA, Argentina

El parásito *Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, que afecta alrededor de 7 millones de personas, principalmente en América Latina. En *T. cruzi*, la prolina puede ser utilizada como fuente de carbono, y además está involucrada en numerosos procesos biológicos, como el progreso del ciclo de vida y la patogénesis. Hasta el momento el único transportador de prolina descrito en *T. cruzi* corresponde a la permeasa TcAAAP069 y previamente hemos demostrado su relevancia en la supervivencia

del parásito. En este trabajo, nos propusimos encontrar nuevos inhibidores de TcAAAP069 que puedan o no presentar además acción tripanocida. Para eso, realizamos una búsqueda bibliográfica de inhibidores del transporte de prolina en diversos organismos. Así identificamos la benztropina (BZT), un medicamento utilizado para tratar la enfermedad de Parkinson que además inhibe el transportador de prolina de mamíferos PROT. En *T. cruzi*, BZT también fue capaz de disminuir el transporte de prolina, y presentó una concentración inhibitoria del 50% (IC50) del crecimiento de 26,2 μM en epimastigotes a las 48 hs, mientras que para el benznidazol (BNZ), la droga de referencia, fue de 32,5 μM . Además se obtuvo una IC50 de supervivencia de 4,7 μM en tripomastigotes a las 24 hs, similar a la del BNZ, que fue de 3,6 μM . Actualmente estamos estudiando el tipo de inhibición que produce la BZT sobre el transporte de prolina, su especificidad, y su efecto sobre el progreso del ciclo de vida intracelular del parásito. Expandir el rango terapéutico de un medicamento ya aprobado, como la BZT, a través de la identificación de nuevos usos para tratar condiciones diferentes a las de su propósito original se conoce como reposicionamiento de fármacos. Este enfoque es altamente recomendado para el desarrollo de nuevas terapias en enfermedades desatendidas ya que permite reducir el tiempo y la inversión económica necesarios para aprobar un nuevo tratamiento.

BMC-036

Fosfolipasas A de *Leishmania* spp.: Estudio de genes putativos como posibles marcadores moleculares mediante análisis filogenético.

Sebastián Andrés López^{1,2}, Guadalupe Gimenez^{1,2}, Jorge Diego Marco³, Paola Andrea Barroso³, Delfor Alejandro Uncos³, Paula Ruybal⁴, María Laura Belaunzarán^{1,2}, Juan José Lauthier⁴

¹Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Buenos Aires, Argentina. ²CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), Buenos Aires, Argentina. ³Instituto de Patología Experimental, Dr.

Miguel Ángel Basombrío, Universidad Nacional de Salta (IPE-UNSa-CONICET), Salta, Argentina. ⁴Laboratorio de Investigación Biomolecular de Enfermedades Infecciosas (LIBEI), Instituto de Medicina Traslacional e Ingeniería Biomédica (IMTIB), CONICET, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires (IUHIBA), Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA), Buenos Aires, Argentina

Las leishmaniasis son parasitosis causadas por diversas especies del género *Leishmania* y que junto con los mecanismos inmunes del hospedero resultan en un amplio espectro de manifestaciones clínicas, histopatológicas e inmunopatológicas. En Argentina coexisten *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (Leishmania) amazonensis* y *L. (Leishmania) infantum*. Las Fosfolipasas A₁ (PLA₁), enzimas que hidrolizan fosfolípidos en la posición *sn*-1, se han detectado en muchos organismos pero son limitadas las secuencias nucleotídicas que están disponibles para su comparación y clasificación. En relación a tripanosomátidos, varios genomas han sido completamente secuenciados y a la fecha se han identificado las secuencias de PLA₁ de *Trypanosoma brucei*, *T. cruzi* y *L. (V.) braziliensis (LbPLA₁)* (GenBank ACCN: AJ716154, JN975637, KJ957826). En este trabajo, se amplificaron por PCR los genes putativos de las PLA₁ de *L. (L.) amazonensis (LaPLA₁)*, *L. (L.) infantum (LiPLA₁)* y *LbPLA₁* a partir de ADN de promastigotes de cultivo axénico y de aislados de muestras clínicas. Los productos amplificados se secuenciaron (Macrogen Inc., Corea), las secuencias nucleotídicas consenso obtenidas junto con las disponibles en las bases de datos (NCBI ó TriTrypDB) se utilizaron para construir alineamientos (MEGA 11) y árboles filogenéticos para el gen de la PLA₁ (MLSTest) mediante el método de *Neighbour Joining* (NJ). El análisis bioinformático de todas las secuencias nucleotídicas permitió diferenciar subgéneros, complejos de especie y especies, en congruencia con la taxonomía del género. Los aislados provenientes de muestras clínicas (casos autóctonos), se agruparon de acuerdo a los diferentes grupos taxonómicos del género y fueron congruentes con la taxonomía determinada por el marcador HSP70. En conclusión, PLA₁ es un prometedor marcador molecular en la diferenciación taxonómica de *Leishmania* spp. y podría aportar un mayor

poder discriminatorio de variantes intraespecie con respecto al marcador de referencia HSP70.

BMC-041

Modulación de la invasión de *T. cruzi* por extractos de *Crataegus oxyacantha* que inhiben la vía del AMPc en la célula hospedadora

Guillermo T Di Mario^{1,2}, Gabriel Ferri^{1,2}, Martin M Edreira^{1,2}

¹QUIBICEN, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. ²UBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Hemos demostrado recientemente la importancia de activación de la vía del AMPc-Epac1-Rap1b en la célula hospedadora en la invasión y establecimiento de la infección por *Trypanosoma cruzi*. Con el objetivo de utilizar dicha vía como potencial blanco terapéutico contra la Enfermedad de Chagas, hipotetizamos inicialmente que la vitexina, una flavona C-glicosilada con supuesta actividad inhibitoria sobre dicha vía, sería un buen candidato a inhibir la infección causada por el parásito. De esta forma, se detectó actividad antiparasitaria en cultivos celulares pre-tratados con un extracto etanólico de *Crataegus oxyacantha* (conocida coloquialmente como majuelo o espino blanco), en el cual se confirmó la presencia de vitexina, entre otras moléculas del grupo de los flavonoides. En este trabajo, se utilizó como pre-tratamiento una infusión de las partes aéreas de *C. oxyacantha*, observándose una inhibición significativa en la infección de *T. cruzi* en células de cultivo. Curiosamente, la presencia de vitexina no pudo confirmarse en el análisis preliminar por HPLC-ESI(-)-HRMS y MS2. De esta forma, se abordó un análisis bioinformático mediante modelado y blind docking con el objetivo de dilucidar posibles compuestos activos y blancos moleculares de aquellos compuestos detectados tanto en la infusión como en el extracto etanólico de *C. oxyacantha*, proponiendo a Epac1 como principal blanco. En dicho análisis se identificaron varios compuestos, entre ellos la vitexina, que posiblemente muestren un mecanismo de inhibición de la vía Epac1-Rap1b

y que además permita explicar un mismo efecto biológico de la infusión y del extracto sobre *T. cruzi*.

BMC-043

Caracterización de la actividad FMN ciclasa de la enzima dihidroxiacetona quinasa de *Trypanosoma cruzi*, TcDAK.

Patricia Garavaglia¹, Luciana Soprano¹, Laura Tasso¹, Vilma Duschak^{1,2}, Joaquín Cannata², Gabriela García¹

¹INP "Dr. Mario Fatała Chaben"-A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbran", CABA, Argentina, ²CONICET, ³IIB-INTECH, UNSAM-CONICET, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Las dihidroxiacetona (DHA) quinasas (DAKs) son una familia de enzimas muy conservadas en secuencia que convierten a la DHA en el intermediario glicolítico DHA-fosfato. Por otro lado, algunas DAKs, además de esta actividad, poseen actividad FMN ciclasa. Hasta el momento, la única DAK descrita en tripanosomátidos es la de *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico del Chagas, denominada TcDAK. Esta enzima posee actividad DAK dependiente de ATP y recientemente, fue caracterizada por nuestro grupo de trabajo.

Actualmente, nos propusimos estudiar la actividad FMN ciclasa de la TcDAK recombinante. La actividad FMN ciclasa consiste en el clivaje de la flavina adenina dinucleótido (FAD) a riboflavina 4',5'-fosfato (FMN cíclico) y adenosina mono-fosfato (AMP). La conversión de FAD a FMN cíclico se evaluó por espectrofotometría, midiendo la hipercromicidad del FAD clivado, a 265 nm. En presencia del catión divalente Mn⁺², se determinó un pH óptimo de 8, con los siguientes parámetros cinéticos para FAD: *K_m* 9.62 μM, *V_{máx}* 127 nmoles/min/mg y *K_{cat}* 259.6 min⁻¹. Teniendo en cuenta que los sustratos ATP y FAD pueden actuar mutuamente como inhibidores competitivos, se estudió el efecto inhibitorio del ATP sobre la actividad FMN ciclasa, obteniendo un *IC₅₀* de 56.1 nM.

La actividad dual de la TcDAK así como el desconocimiento de la función del FMN cíclico hacen de esta enzima un blanco interesante de estudio. Las DAKs juegan un rol central en la

adaptación al stress hiperosmótico en varios microorganismos. En *T. cruzi*, la hiperosmolaridad y las flavinas son factores que favorecen la metacicloogénesis, es decir, la diferenciación de epimastigote a tripomastigote metacíclico en el intestino del insecto vector. Estos antecedentes nos permiten postular que la TcDAK podría participar en este proceso de diferenciación parasitaria.

BMC-045

Caracterización biofísica y bioquímica de Protein Disulfuro Isomerasas de *Trypanosoma cruzi*

Maria Soledad Treffinger Cienfuegos, Carlos Alberto Labriola, Julio Javier Caramelo

IIBBA - FIL, Buenos Aires, Argentina

Aproximadamente un tercio de las proteínas eucariontes pertenecen a la vía secretoria. Son sintetizadas por ribosomas unidos a la membrana del retículo endoplásmico (RE) e ingresan al mismo y/o se integran a su membrana a través del traslocón SEC61. En el lumen de RE, las proteínas sufren diversas modificaciones co- y postraduccionales tales como la glicosilación y la formación de puentes disulfuro. Esta última modificación es llevada a cabo por enzimas denominadas protein disulfuro isomerasa (PDIs). Los sistemas de PDIs de *Trypanosoma cruzi* no han sido estudiados hasta la fecha. Su genoma presenta al menos cuatro PDIs putativas en el RE. Nos propusimos realizar su caracterización biofísica y bioquímica mediante espectroscopía y ensayos *in vivo*. Se ha observado actividad de óxido-reductasa y chaperona en tres de ellas. Además, se investigó la interacción con la lectina/chaperona típica de *T. cruzi*, calreticulina (CRT). Esta lectina participa en el sistema de control de calidad de plegado de glicoproteínas. A partir de esta información, podemos proponer que *T. cruzi* posee un sistema mínimo de oxidación e isomerización de puentes disulfuro.

BMC-048**La nistatina como inhibidor del transporte de arginina en *Trypanosoma cruzi* y su potencial reposicionamiento como alternativa terapéutica contra la enfermedad de Chagas**

Belen J. Maciel, Chantal Reigada, Marcos Rengifo, Fabio DiGirolamo, Mariana R. Miranda, Melisa Sayé, Claudio A. Pereira

IDIM, UBA-CONICET, CABA, Argentina

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, es una enfermedad desatendida que afecta a más de 6 millones de personas en América Latina. El metabolismo de aminoácidos en *T. cruzi* es muy importante como fuente alternativa de carbono y como reservorio de energía. Por ejemplo, la arginina, puede convertirse en fosfoarginina por la reacción reversible: arginina+ATP \leftrightarrow P-arginina+ADP. Al sobre-expresar el transportador de arginina TcAAP3, se incrementan los niveles de arginina intracelular, provocando un desbalance energético, que compromete la supervivencia del parásito. Además el transportador de arginina de *T. brucei*, ortólogo de TcAAP3, es esencial para la supervivencia del parásito.

El reposicionamiento de fármacos es una estrategia económica y rápida para encontrar nuevas drogas contra enfermedades. Aprovechando medicamentos ya aprobados para otras patologías, este enfoque ofrece un camino más accesible hacia la identificación de nuevas opciones terapéuticas. La nistatina (NIS) es un antifúngico que inhibe el transportador de arginina CAN1 de *Saccharomyces cerevisiae*. En este trabajo se evaluó el potencial de la NIS como inhibidor del transportador de arginina TcAAP3 de *T. cruzi*, y también su actividad tripanocida con concentraciones crecientes de droga en parásitos de la cepa CL Brener. En los ensayos de transporte de arginina la NIS presentó una concentración que inhibe el 50% (IC50) de la actividad de TcAAP3 de 1,18 μ M. Por otro lado la IC50 de crecimiento en epimastigotas fue de 0,21 μ M, mientras que en tripomastigotas la

IC50 de supervivencia fue de 4,9 μ M. El benznidazol, medicamento de referencia, presentó unas IC50 de 10,5 μ M y 3,6 μ M para epimastigotas y tripomastigotas respectivamente, por lo que la NIS tuvo una buena actividad tripanocida. En conclusión, la NIS presenta un gran potencial para ser reposicionada como nueva terapia contra la enfermedad de Chagas por lo que se planea seguir estudiando su efecto en *T. cruzi*.

BMC-049**Efectos de las drogas topotecan y 10-Hidroxycamptotecina en la replicación y daño del ADN de *Toxoplasma gondii***

Constanza Cristaldi¹, Ana M. Saldarriaga Cartagena¹, Agustina Ganuza¹, William J. Sullivan², Sergio O. Angel¹, Laura Vanagas¹

¹INTECH, Chascomús, Argentina. ²IUPUI, Indianapolis, USA

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado perteneciente al phylum Apicomplexa, causante de la toxoplasmosis en humanos y animales en todo el mundo. Si bien existen tratamientos contra esta enfermedad, debido a la toxicidad de los fármacos utilizados hay una intensa búsqueda de nuevos tratamientos contra el parásito que sean inocuos para la célula hospedadora. Por ende, nuestro estudio se centró en evaluar el potencial terapéutico de dos compuestos: topotecan y 10-hidroxycamptotecina (HCPT), derivados de la camptotecina (CPT). Topotecan fue aprobado por la FDA, mientras que HCPT es un producto natural que está bajo investigación en ensayo clínico del síndrome mielodisplásico. Estos compuestos afectan a la topoisomerasa I, induciendo roturas de doble cadena (DSB, por sus siglas en inglés) en *T. gondii*. En nuestro trabajo, encontramos que tanto topotecan como HCPT afectan la replicación del parásito de manera dependiente de su concentración. Además, observamos variaciones en las señales de fluorescencia de γ H2A.X, marcador de daño en el ADN, en parásitos intracelulares bajo tratamiento. Los parásitos intracelulares sin tratamiento mostraron una fuerte señal para

γ H2A.X, lo que sugiere un daño basal en el ADN. En términos del ciclo celular, topotecan no mostró cambios discernibles, mientras que HCPT provocó un arresto significativo en la fase S. Es relevante destacar que los parásitos extracelulares no presentaron señales de γ H2A.X, lo que sugiere que el daño basal en el ADN podría estar vinculado al estrés replicativo. Nuestros resultados indican que estas drogas son agentes antiparasitarios que podrían usarse en combinación con drogas que afecten la maquinaria de reparación del parásito, pudiendo contribuir al desarrollo de un tratamiento seguro contra la toxoplasmosis.

BMC-055

Estudio de la SUMOilación en la Formación de Condensados Moleculares

Melina A. Serassio, Paula A Iribarren, Vanina E Álvarez

IIBio-EBYn-UNSAM-CONICET, Buenos Aires, Argentina

La SUMOilación de proteínas es una modificación post traduccional que involucra la unión covalente de una proteína pequeña con homología estructural a ubiquitina llamada SUMO a residuos de lisina de distintas proteínas blanco. Esta modificación, al igual que la ubiquitinación, puede darse en forma de cadenas gracias a la presencia de residuos de lisina internos dentro de SUMO. En nuestro modelo de estudio, *Trypanosoma brucei*, hemos demostrado que la SUMOilación de proteínas está implicada en procesos clave para la vida del parásito dentro del hospedador mamífero como los son el quorum sensing y la variación antigénica. Durante el estadio sanguíneo de *T. brucei* las proteínas SUMOiladas se encuentran concentradas en un foco extranucleolar llamado HSF (por "*highly SUMOylated focus*") que regula positivamente la expresión de la principal glicoproteína variable de superficie, VSG. Dicho HSF colocaliza con el complejo encargado de la transcripción de la VSG activa, ESB (por "*expression site body*"), enriquecido en ARNpoll. Las cepas monomórficas y pleomórficas de *T. brucei* presentan diferencias en su capacidad de diferenciación y tasa de

variación antigénica por lo que nos resultó de interés analizar si estas diferencias podrían deberse a cambios en el grado de poliSUMOilación y capacidad de ensamblado de condensados moleculares. Para ello, hemos generado líneas incapaces de formar cadenas de SUMO tanto monomórficas como pleomórficas, y evaluaremos la presencia del HSF en estas cepas junto con la sobreexpresión de la deSUMOilasa (*Tb*SENP) o la sobreexpresión inducible sondas con motivos de unión no covalente a SUMO (SIM) para competir con las interacciones que éste promueve. La dinámica de formación de condensados nucleares será evaluada por inmunofluorescencia indirecta utilizando anticuerpos anti-SUMO y anticuerpos anti-ARN pol I.

BMC-057

Análisis proteómico de la superficie de *Tritrichomonas foetus*

María B Rivero^{1,2}, Andrés M Alonso³, María E Abdala^{1,2,4}, Melchor E Luque^{1,2,4}, Pedro G Carranza^{1,2,4}, Veronica Coceres³, Fernando D Rivero^{1,2,4}

¹LaBIM-IMSaTeD (CONICETT-UNSE), Santiago del Estero, Argentina. ²FCM-UNSE, Santiago del Estero, Argentina. ³INTECh(CONICET-EBYn-UNSAM), Chascomús, Argentina. ⁴FAyA-UNSE, Santiago del Estero, Argentina

Tritrichomonas foetus es un protozoario flagelado extracelular y es el agente causal tanto de un tipo de gastroenteritis en felinos como de pérdidas reproductivas en bovinos. Es sabido que las moléculas de la superficie de los parásitos son el resultado del entorno al que están expuestos durante su ciclo de vida y que existen variaciones de dichas proteínas de superficie en los diferentes hospedadores. Por otro lado, no se descarta la existencia de factores proteicos comunes entre aislamientos por lo cual el estudio de estos permitiría el desarrollo de estrategias diagnósticas reproducibles entre hospedadores. En el presente trabajo utilizamos una combinación de técnicas de ultracentrifugación y posterior análisis proteómico de 5 aislamientos de *T. foetus*. El objetivo consistió en determinar la abundancia de proteínas de superficie para

cada aislamiento. Posteriormente, se elaboró un pipeline bioinformático para el análisis de datos proteómicos mediante el cual se detectaron 15 targets proteicos superficie de similar abundancia en los 5 aislamientos de *T. foetus* y con potencial para la elaboración de técnicas diagnósticas. Finalmente realizamos un análisis comparativo entre las proteínas identificadas en nuestro ensayo y los datos reportados previamente para *T. foetus* aislados de felinos, ya que la infección en este hospedador se encuentra pobremente abordada.

BMC-065

Estudio de la localización subcelular estado-específica de la proteína TcAlba30 de *Trypanosoma cruzi* en función de su estado de acetilación.

Felipe Castro, Leticia Pérez-Díaz

Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay

El dominio ALBA (*Acetylation Lowers Binding Affinity*) es un dominio de unión a ácidos nucleicos identificado inicialmente en proteínas de archeas y luego en eucariotas. Las proteínas con dominio ALBA pueden unirse a ADN o ARN en función de su estado de acetilación y participan en procesos celulares como regulación de la traducción, mantenimiento de la estabilidad del genoma y compactación de la cromatina, regulación de la transcripción y del procesamiento del ARN, entre otros. Para cumplir dichas funciones, estas proteínas deben ser capaces de translocarse del núcleo al citoplasma. La localización dual núcleo-citoplasma ha sido previamente reportada en otros tripanosomátidos, en *T. brucei* y *L. infantum* se evidenció un patrón de localización subcelular dinámico estado-dependiente y una implicancia en la regulación postranscripcional. En *T. gondii* y *P. falciparum* se evidenció que la localización estado específica depende del estado de acetilación de la proteína en lisinas particulares. Nuestro grupo identificó 4 proteínas con dominio ALBA en *T. cruzi* cuya función aún no ha sido descrita, entre ellas TcAlba30. En este trabajo se analizó la

localización subcelular de la proteína TcAlba30 en *T. cruzi* mediante una sobreexpresión de la misma fusionada a GFP y de una versión mutante no-acetilable de esta fusionada a RFP, donde se sustituyeron las lisinas acetilables por argininas. La localización de ambas proteínas a lo largo del ciclo de vida se estudió mediante microscopía confocal y microscopía de expansión de ultraestructura. En epimastigotas la proteína acetilable presenta una localización difusa a lo largo del citoplasma mientras que la variante no-acetilable se aglomera en gránulos discretos, ambas proteínas presentan señales puntuales en regiones nucleolares. En amastigotas la localización nuclear de ambas proteínas es más evidente. Los resultados obtenidos contribuyen al esclarecimiento de la posible función dual de una proteína con dominio ALBA en *T. cruzi*.

BMC-068

Sirtuinas de cestodos: expresión y caracterización para su estudio como blancos farmacológicos de la equinocosis quística

Ma. del Pilar Cevalco Contreras, Ana M. Celentano, Hugo R. Vaca, Mara C. Rosenzvit

IMPam, CABA, Argentina

La equinocosis quística es una zoonosis endémica en Argentina causada por parásitos cestodos del complejo *Echinococcus granulosus sensu lato*. Para su tratamiento se emplea principalmente el albendazol que no es bien tolerado y resulta inefectivo en muchos casos. Por esto, la búsqueda de nuevos blancos farmacológicos y compuestos asociados resulta necesaria. Teniendo en cuenta que en estos cestodos se producen cambios morfológicos y fisiológicos durante el ciclo de vida y el posible rol de la regulación epigenética sobre éstos, nos enfocamos en el estudio de las enzimas deacetilasas de histonas (HDACs), en particular las sirtuinas (Sirts). Hemos estudiado las mismas, y mostramos que un inhibidor de estas proteínas tiene potencial antihelmíntico. El objetivo de este trabajo es obtener Sirt2 recombinante de *Echinococcus canadensis* y de *Mesocestoides vogae* (parásito modelo de

laboratorio) para su posterior caracterización funcional y evaluación frente a inhibidores específicos. Se extrajo ARN y se obtuvo mediante RT-PCR el cDNA de Sirt2, se clonó en el vector pMAL-c5E y se transformó en *Escherichia coli* BL21 (DE3). Se evaluó su expresión en distintas condiciones de inducción mediante SDS-PAGE. Un segundo objetivo es evaluar el potencial cestocida de inhibidores selectivos sintéticos de Sirt2. Éstos se incubaron con tetratridios de *M. vogae*, y el efecto se evaluó por microscopía óptica y el sistema de medición de motilidad Worm MicroTracker. Los resultados mostraron que fue posible expresar dos isoformas de Sirt2 de cada parásito, lo que permitirá purificarlas para su caracterización funcional y evaluar el efecto de inhibidores en su actividad. La evaluación de inhibidores selectivos de Sirt2 sobre la viabilidad parasitaria mostró cierta actividad cestocida, sentando la base para la identificación de nuevos inhibidores. Se espera que estos resultados permitan analizar el potencial de las sirtuinas como blancos terapéuticos de enfermedades zoonóticas desatendidas.

BMC-069

Estudios post-genómicos en *Trypanosoma cruzi*: Desarrollo de algoritmos de curado, clasificación y caracterización de familias multigénicas

Aldana A Cepeda Dean^{1,2}, Carlos A Buscaglia^{1,2}, Virginia Balouz^{1,2}

¹Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBio), Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), and Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. ²Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN), UNSAM, Buenos Aires, Argentina

Trypanosoma cruzi, es el protozoario causante de la enfermedad de Chagas, de gran relevancia en la región. Se han descrito seis linajes evolutivos en *T. cruzi* (TcI a TcVI), los cuales incluyen múltiples cepas que muestran gran variabilidad genotípica. Uno de los factores que más contribuyen a la diversidad genómica de *T. cruzi* es la

amplificación/contracción y/o diversificación de familias multigénicas importantes para la interacción con el huésped (mucinas, *trans*-sialidasas [TS], *mucin-associated surface proteins* [MASP]). Esta variabilidad, sin embargo, se encuentra subvalorada debido a dificultades asociadas al ensamblaje y anotación de los genomas de este patógeno. Usando diversas herramientas bioinformáticas, en este trabajo realizamos un exhaustivo análisis y curado manual de las bases de datos MASP de las cepas Brazil A4 (TcI) y TCC (TcVI) de *T. cruzi*. En ese proceso encontramos múltiples genes anotados como MASP que en realidad corresponden a secuencias truncas, con errores de predicción, o pseudogenes. Asimismo, identificamos secuencias quiméricas de MASP con TS y mucinas, por lo que también generamos bases de datos curadas para estas familias génicas. Todas estas herramientas nos permitieron identificar 19 firmas moleculares, las cuales fueron incorporadas como expresiones regulares en un algoritmo diseñado para la identificación automática y clasificación funcional de miembros de la familia MASP. Más aún, el empleo de una estrategia masiva, basada en la predicción de Open Reading Frames *de novo* acoplada a nuestro algoritmo, nos permitió rectificar la anotación de MASP en distintos genomas de *T. cruzi*, hacer estudios comparativos no sesgados entre cepas e incluso identificar nuevas secuencias MASP de esos genomas, incluyendo genes funcionales, pseudogenes y quimeras. En conjunto, estos hallazgos y las herramientas aquí generadas sientan las bases para futuros estudios tanto funcionales como evolutivos de las familias multigénicas de *T. cruzi*.

BMC-070

Trans-splicing alternativo del ARN mensajero de TcSET23 genera 2 transcriptos de diferente abundancia en epimastigotes de *T. cruzi*

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

INGEBI, Buenos Aires, Argentina

Trypanosoma cruzi posee un ciclo de vida complejo, exponiéndose a cambios abruptos en su entorno. Como respuesta a estos cambios, el parásito alterna 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. Su alternancia entre estadios involucra cambios en la expresión génica, regulados mayormente a nivel post-transcripcional. Esta alternancia está en parte modulada a nivel epigenético mediante modificadores post-traduccionales de histonas. Dentro de estos, se encuentran las metiltransferasas SET. En el genoma de *T. cruzi* existen diversos genes de esta familia que no han sido caracterizadas hasta el momento. En este trabajo nos enfocamos en estudiar a TcSET20 y TcSET23 por presentar propiedades conservadas respecto a SETs estudiadas en organismos modelo. Utilizando parásitos de la cepa CL Brener, evaluamos la expresión de sus ARN mensajeros (ARNm) mediante RT-PCR y comprobamos que los ARNm de ambas TcSET se expresan en los estadios de epimastigote, tripomastigote y amastigote. Adicionalmente, observamos 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. Ensayos preliminares de RT-qPCR utilizando primers específicos de cada isoforma indican que la isoforma más larga de TcSET23 tiene un mayor nivel de expresión que la corta y que TcSET20 en epimastigotes. Mediante un análisis *in silico*, observamos que la región 5' UTR más larga posee una estructura secundaria mucho más estable, sugiriendo que el 5' UTR largo le podría otorgar una mayor vida media al transcripto respecto a la forma corta. Estamos realizando curvas de calibración para su cuantificación y vamos a extender el análisis cuantitativo a otras formas del parásito.

BMC-071

The auxin-inducible degron system in *Trypanosoma cruzi*.

Gonzalo J Perugorria¹, Marisol Cantalupi¹, León A Bouvier², Gabriela T Niemirowicz¹

¹IIBIO-CONICET-UNSAM, San Martín, Argentina. ²IFIBYNE-CONICET-UBA, Buenos Aires, Argentina

Genetic manipulation of *Trypanosoma cruzi* has significantly improved since the implementation of the CRISPR/Cas9 system. Although this technology has successfully been used to knockout genes as well as to perform endogenous gene tagging, functional analysis of essential genes remains impaired due to the absence of tools for generating conditional mutant strains. In this context, degron-based strategies for controlling protein expression have become a popular approach for the rapid and reversible depletion of target proteins. Among these methods, auxin-inducible degron (AID) technology – which utilizes plant auxin signaling components to modulate protein degradation in non-plant species – is a widely employed small-molecule-controlled degradation methodology in yeasts, animals, and apicomplexa. In this study, we explore the AID system for regulating protein expression in *T. cruzi*. To evaluate this approach, we developed a vector containing a single transcription unit that includes the auxin receptor F-box protein TIR1 from *Oryza sativa* (*OstTIR1*), a mEGFP reporter fused to the miniAID (AID-mEGFP) sequence and a downstream G418 resistance (Neo) coding sequence connected through two 2A peptides. Overexpression of *OstTIR1* protein did not affect *T. cruzi* doubling time nor produce any noticeable phenotype. Addition of the natural plant hormone indole acetic acid (IAA) to transgenic epimastigote cultures had no effect on AID-mEGFP protein levels. However, when using the synthetic auxin naphthalene acetic acid (NAA), we observed a rapid depletion of the reporter with a 70% reduction after 4 hours. Our preliminary findings suggest that the AID may serve as an alternative tool for studying essential genes in trypanosomatids.

BMC-072

Gene tagging in *Trypanosoma cruzi*.

Marisol Cantalupi¹, Gonzalo J Perugorria¹, León A Bouvier², Gabriela T Niemirowicz¹

¹IIBIO-CONICET-UNSAM, San Martín, Argentina. ²IFIBYNE-CONICET-UBA, Buenos Aires, Argentina

Genome editing techniques are essential to understand different biological and cellular processes. Historically, genetic manipulation of *Trypanosoma cruzi* has been challenging compared to other pathogenic protozoans. Nowadays, most gene tagging strategies available rely on vectors that overexpress the protein of interest or on CRISPR/Cas9-based gene insertion methodologies. Both these options demand considerable time and technical expertise. Additionally, the use of pre-established *T. cruzi* cell lines are occasionally essential. To overcome these limitations, we devised a simple PCR-based strategy to target different chromosomal loci for the insertion of different epitope tags. To test this approach, we constructed a series of template plasmids that carry the mEGFP 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. To investigate the performance of this method, we generate an epimastigote cell line that constitutively expresses the mCherry fluorescent protein using the pROCK vector. This gene was interrupted with the mEGFP sequence employing genetic constructs with different recombination length. Using this strategy, after four weeks of selection, approximately 95% of the transgenic epimastigote population lost the expression of the mCherry protein. Cloned cell lines analysis by PCR followed by DNA sequencing indicated that the constructs had accurately integrated into the mCherry locus. Moreover, we were able to detect mEGFP protein expression by Western blot and flow cytometry analysis. 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 labeling of genes in *T. cruzi*.

BMC-075

Rol de TcAUK1 y la metilación diferencial de H3K76 en la progresión del ciclo celular de *Trypanosoma cruzi*

Maria del Rosario López¹, María del Rosario Lavignolle², Salome Vilchez Larrea¹, Josefina Ocampo¹, Rafael Arguello², Guillermo Alonso¹

¹INGEBI, CABA, Argentina. ²Centro de Inmunología de Marsella, Marsella, France

T. cruzi es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas y tiene un ciclo de vida complejo. Los epimastigotes son la forma replicativa en el vector, los tripomastigotes son la forma infectiva no replicativa y los amastigotes son la etapa intracelular replicativa. La progresión adecuada del ciclo de vida está íntimamente ligada al ciclo celular y requiere múltiples factores para lograr una regulación fina. La epigenética está implicada en dicho proceso dado que la metilación diferencial (mono, di o tri metilación) de la lisina 76 de la histona 3 (H3K76) cambia a lo largo del ciclo celular. H3K76 es blanco de las metiltransferasas TcDot1a y TcDot1b. La eliminación de TcDOT1b detiene el ciclo celular en G2/M. Además, la sobreexpresión de Aurora quinasa 1 (TcAUK1) afecta la misma etapa del ciclo celular. Sin embargo, se desconocen los mecanismos moleculares implicados en ambos casos o si existe una regulación cruzada de ambas vías.

Uno de los principales problemas para abordar este estudio, es que los parásitos transgénicos para TcAUK1 o las TcDOT1 han sido difíciles de obtener o mantener. En este trabajo se logró usar citometría de flujo para realizar análisis cuantitativos utilizando pocos parásitos y bajas cantidades de anticuerpos. La puesta a punto de esta técnica se realizó haciendo la comparación de las metilaciones diferenciales de H3K76 en cuatro cepas de *T. cruzi*: DM28c, CL Brener, K98 y Tulahuen. Se corroboró que la proporción de metilaciones de este residuo coinciden con las reportadas con otras técnicas en trabajos previos. Además, al analizar la progresión del ciclo celular pudimos observar que en cultivos sincronizados de epimastigotes de la cepa CL Brener los niveles TcAUK1 varían

a lo largo del mismo presentando un máximo en G2/M. Por otra parte, contamos con una cepa de CL Brener que sobreexpresa TcAUK1, en la cual planeamos estudiar la metilación diferencial de H3K76 a lo largo del ciclo celular.

BMC-076

Descifrando el panorama funcional de grupos de genes co-expresados en *Trypanosoma cruzi*

Lucas Inchausti^{1,2}, Álvaro Martín³, Leticia Pérez-Díaz², Beatriz Garat², José Sotelo-Silveira^{4,5}, Pablo Smircich^{1,2}

¹Laboratorio de Bioinformática, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ²Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. ³Instituto de Computación, Facultad de Ingeniería, UdelaR, Montevideo, Uruguay. ⁴Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. ⁵Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, UdelaR, 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 prospera en entornos empobrecidos. *T. cruzi* se caracteriza por un ciclo de vida complejo que implica diferentes etapas de diferenciación. Sus genes se expresan de manera policistrónica, siendo los mecanismos post-transcripcionales los principales reguladores de la expresión génica. Los análisis de co-expresión génica son una herramienta valiosa para estudiar 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 mediante la caracterización y el análisis funcional de grupos de genes co-expresados utilizando datos transcriptómicos de todas las etapas del ciclo de vida de *T. cruzi*.

En este contexto, hemos identificado varios grupos de genes co-expresados mediante la construcción de una red de co-expresión génica. Hemos realizado una caracterización funcional de cada grupo, identificando grupos con expresión génica específica de estadio, hemos realizado análisis de sobrerepresentación de motivos de secuencia

en las regiones 3'UTR de los genes de cada grupo, análisis del uso de codones y más. Finalmente, hemos establecido un método de priorización de genes basado en la topología de la red para su anotación funcional y realizado la anotación de varios genes de cada grupo.

Esperamos que estos resultados contribuyan de manera significativa a la comprensión de la biología molecular de este parásito altamente relevante.

BMC-078

Proteómica de metacestodes de *Echinococcus granulosus* s.l. hallados en *Felis catus* sugiere diferencias metabólicas entre dos muestras.

Andrea Maglioco^{1,2}, María L Gertiser³, María P Valacco^{4,2}, Héctor G Ávila^{5,2}, Facundo A Agüero^{1,2}, Alejandra J Juárez Valdez¹, Oscar Jensen³, Alicia G Fuchs^{1,6}

¹CAECIHS-UAI, CABA, Argentina. ²CONICET, CABA, Argentina. ³Centro de Zoonosis, Chubut, Argentina. ⁴CEQUIBIEM-FCEyN, UBA, CABA, Argentina. ⁵Laboratorio Provincial de Zoonosis, San Juan, Argentina. ⁶INP-Fatala Chaben, ANLIS-Malbrán, CABA, Argentina

La equinococosis quística es una zoonosis producida por el *Echinococcus granulosus* s.l. (Eg) mundialmente distribuida y endémica en nuestro país. El hospedero definitivo es el perro que libera con su materia fecal las oncósferas fértiles que son ingeridas por los hospederos intermediarios (animales ungulados). Los perros se infectan ingiriendo los quistes parasitarios de las vísceras crudas de los hospederos intermediarios. Biológicamente, la reproducción es sexuada en el perro y asexuada en el intermediario. El humano y el *Felis catus* se comportan como hospederos intermediarios accidentales. Dos *Felis catus* portadores de hidatidosis abdominal con quistes múltiples fueron operados. El Eg fue G1 y la viabilidad baja en ambos casos (Jensen O et al, 2020). Las vesículas fueron conservadas en nitrógeno líquido. Una vesícula de cada muestra fue descongelada y disgregada mecánicamente y luego se incubaron en CHAPS en TRIS-HCl-EDTA, congelando y descongelando 5 veces. El sobrenadante de la centrifugación se utilizó

para realizar la electroforesis preparativa. Se identificaron las proteínas por MS/MS. Luego se compararon las proteínas comunes entre las dos muestras y su abundancia y en forma gráfica la relación entre ellas dentro de cada muestra. Se determinó que la muestra 1 tenía mayor cantidad de proteínas de Eg en relación a las proteínas totales identificadas (gato y parásito). Considerando ambas muestras, el número de proteínas más representadas son las del metabolismo intermedio y las menos representadas las sexuales y nucleares. Respecto a la abundancia de cada una de las proteínas, la ferritina (UNIPROT U6JNP4) fue la de mayor representación en ambas muestras (69 % y 82 %). Respecto al algoritmo de la abundancia la mayor diferencia se encontró en la acetil-CoA- hidrolasa y en la 2-amino-3-cetobutirato-CoA-ligasa (W6U588; W6UDQ6). La identificación de proteínas por MS/MS provee datos que en el futuro podrían correlacionarse con el comportamiento parasitario.

BMC-084

El factor con bromodominio 5 (BDF5) es parte de un complejo que participa en la compactación de la cromatina de *Trypanosoma cruzi*

Lucila Attala, Elvio Rodriguez Araya, Pamela Cribb, Esteban Serra

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. (IBR – UNR - CONICET), Rosario, Argentina

Los bromodominios (BDs) son dominios se encuentran en proteínas de diversas arquitecturas denominadas factores con bromodominios (BDF) capaces de reconocer lisinas acetiladas en las histonas.

Se han identificado ocho proteínas con BDs en *T. cruzi*, llamadas TcBDF1-8. Entre ellas, TcBDF5 es el único BDF que tiene dos BDs, además de una copia de un dominio MRG, definido como un módulo de interacción proteína-proteína. Mediante la técnica CRISPR/Cas9 sólo se pudo obtener parásitos mutantes hemigóticos para TcBDF5, los cuales mostraron un aumento en

el tiempo de duplicación, en comparación con la cepa de tipo silvestre.

Distintas versiones de TcBDF5 fueron sobreexpresadas en forma inducible por el plásmido pTcINDEX. Se observó que los niveles de expresión de este factor están estrechamente relacionados con el fenotipo de crecimiento del parásito. 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. En contraste, los mutantes en la asparagina considerada esencial para la función de cada bromodominio afectaron ligeramente el crecimiento. Estos resultados sugieren que el dominio MRG podría ser más importante para la función del TcBDF5 que sus BDs.

Ensayos de resistencia nuclear a la lisis con detergentes indicaron que la sobreexpresión de las distintas versiones correlaciona con el efecto en las tasas de crecimiento y el número de núcleos resistentes recuperados. Resultados de TEM sugieren que el efecto de resistencia nuclear se debe a un elevado grado de compactación de la cromatina resultado de la sobreexpresión de este factor.

Por otro lado, ensayos de metaciclologénesis y de exposición a la radiación UV demostraron que los niveles de expresión intracelular de esta proteína afectan la capacidad de transformación y supervivencia del parásito

BMC-090

Axenic culture of *Trypanosoma cruzi* amastigotes as a model for differential metabolic characteristics in the intracellular parasite form

Alejo F Prego, Guillermo D Alonso

INGEBI, CABA, Argentina

Trypanosoma cruzi has a complex life cycle, alternating between an insect vector and the human host, with three well-defined stages: epimastigotes, trypomastigotes, and amastigotes. The stages present in humans are bloodstream trypomastigotes, which is the

infective but non-replicative form, and amastigotes, the intracellular replicative form, which are the focus of clinical treatments. Currently, there are two drugs used for treatment: benznidazole (Bz) and nifurtimox. These drugs must be metabolized by the parasite, so they can have an effect, and have a high degree of toxicity to the patient, often leading to treatment abandonment. Recently, the presence of dormant amastigotes within infected cells was described, and they are considered one of the possible causes of therapeutic failure due to their low or null metabolic activity, being able to resist Bz treatment, redifferentiate into trypomastigotes, and reinfect, causing disease relapse. Previous studies described a strategy to differentiate trypomastigotes into amastigotes axenically, using an acidic medium, and maintaining them in this state for a short period (10 days). In this study, we describe a new formulation that allows doubling the cultivation time of axenic amastigotes while preserving their ability to differentiate into trypomastigotes and maintaining their infective potential, similar behavior as dormants. Additionally, we observed signs of a more active metabolism in amastigotes obtained from infected Vero cell cultures, as opposed to those obtained through *in vitro* differentiation. Therefore, it is necessary to expand studies to determine whether using axenic amastigotes as a model for cultured amastigotes is equivalent or if they would exhibit reduced metabolic activity, making them more similar to dormants.

BMC-091

Tejiendo la red: Una mirada al interactoma de la GTPasa pequeña Rab11 de *Trypanosoma cruzi*

Raquel Parada Puig, María dLM Cámara, Juan S Mucci

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Las proteínas Rab son GTPasas implicadas en la regulación del transporte intracelular y, si bien su presencia, número y función varía considerablemente entre especies, estas son ubicuas en todos los eucariotas,

desempeñando funciones relativas a la regulación del transporte y comunicación vesicular entre organelas o entre organelas y la membrana plasmática. Sus funciones dependen de la asociación con diferentes familias de proteínas que actúan como inhibidores, efectores, activadores o intercambiadores de nucleótidos, facultándolas para asociarse o disociarse de las membranas y regular distintas etapas del transporte vesicular. En *Trypanosoma cruzi* se han identificado genes ortólogos de proteínas Rab, pero los estudios funcionales son escasos. Rab11 es una de las pocas proteínas analizadas y se ha identificado como esencial para el transporte de la *trans*-sialidasa (TS) -un factor de virulencia esencial para el parásito- hacia la membrana plasmática y a través de la vacuola contráctil. En este trabajo analizamos el interactoma de Rab11 en epimastigotes de *T. cruzi* (CL) expresando una versión GFP-N-terminal de dicha proteína. Mediante un ensayo de coinmunoprecipitación (GFP-trap, Chromotek®) acoplado a espectrometría de masas identificamos casi 200 interactores, entre los cuales destacan miembros de complejos proteicos como BBSoma (síndrome Bardet-Biedl), IFT (transporte intraflagelar), AP-3 (complejo proteína adaptadora 3), SNARE (complejo SNARE para fusión vesicular y transporte proteico), GARP (anclaje de proteínas asociado al transporte retrógrado del Golgi), EARP (anclaje de proteínas asociado al transporte retrógrado del Golgi), SCP (citostoma-citofaringe) y ESCRT-III (sorting endosomal para transporte y exocitosis), entre otros. Dada la importancia de la TS para *T. cruzi*, consideramos que el análisis de los factores implicados en su transporte podría proporcionar valiosa información para el desarrollo de drogas específicas contra el mismo.

BMC-092

Vps32 affects the cell cycle and alters endocytic traffic in *Trypanosoma brucei*

Cecilia M Martínez, Nadia M Barrera, Alejandra C Schoijet, Guillermo D Alonso

Ingebi, CABA, Argentina

Trypanosoma brucei is the causative agent of African trypanosomiasis in humans and cattle. This parasite undergoes two distinct developmental stages: the tsetse fly procyclic form (PCF) and the mammalian bloodstream form (BSF). Stage differentiation is critical for successful life cycle progression, while endocytosis, exocytosis and autophagy are essential for survival. The Endosomal Sorting Complex Required for Transport (ESCRT) is a set of complexes composed of numerous proteins responsible for vesicle formation during intracellular transport. In trypanosomatids, ESCRT-III is the most prominent and is highly conserved among eukaryotes. One member of this complex, Vacuolar Protein Sorting 32 (Vps32), plays an important role in cytokinesis and endocytic trafficking, as demonstrated in human and yeast models. In previous research from our laboratory, we identified the *T. brucei* Vps32 ortholog (TbVps32) and observed that downregulation of TbVps32 leads to a reduction in endocytosis and affects intracellular trafficking. In our current work, we aim to further investigate the role of this protein in the PCF stage. To achieve this goal, we have established two different cell lines: one in which TbVps32 is overexpressed under a Tet-inducible regulatory system (HA-TbVps32) and another in which protein expression can be silenced using an inducible interference RNA system (TbVps32-iRNA). Using these cell lines, we have performed numerous assays to study endocytosis. Using Ultrastructure expansion microscopy (U-ExM), we have identified clear phenotypic differences between uninduced and induced parasites. In conclusion, we have shown that both overexpression and silencing of TbVps32 impairs cell proliferation and its results in severe abnormal nuclear-kinetoplast configurations.

BMC-096

Interplay between autophagy and metacyclogenesis in *Trypanosoma*

***cruzi*, unravelling the role of TcVps34-Vps15 complex**

Leiss Juan Manuel, Alonso Guillermo D. and Schoijet Alejandra C.

INGEBI –CONICET, Buenos Aires, Argentina.
aschoijet@gmail.com

Autophagy is a ubiquitous eukaryotic process that also occurs in trypanosomatid parasites. Half of the known yeast and mammalian AuTophagy (ATG) proteins were detected in trypanosomatids, although with low sequence conservation. Interestingly, autophagy is involved in differentiation of *T. cruzi* from epimastigotes to metacyclic trypomastigotes, a process called metacyclogenesis. In mammals, two kinases differentially regulate the process of autophagy: mTor and a phosphatidylinositol 3-kinase, Vps34, which interact with a regulatory subunit, Vps15. In this work, we demonstrate that parasites overexpressing TcVps34 or TcVps15 proteins enhance both, autophagy and metacyclogenesis. TcVps34 or TcVps15 overexpressing epimastigotes were able to differentiate to metacyclic forms in a higher proportion than wild type cells. Parasites overexpressing these proteins showed a more intense labeling with the autophagosome marker Atg8.1 and higher levels of monodansylcadaverine (MDC) staining, a specific *in vivo* marker for autophagic vacuoles, in the intermediate forms of differentiated parasites, in comparison to control parasites. To extend this study we also performed assays with DQ-BSA, to evaluate degradative compartments. TcVps34 and TcVps15 overexpressing epimastigotes subjected to nutritional stress shown a significant increase in the number of lysosomes, as compared to controls. In addition, treatment with wortmannin, an inhibitor of autophagy, of parasites exposed to differentiation conditions impaired the autophagic response in less measure in overexpressing parasites. Finally, we are performing infection assays with these overexpressing parasites to assess whether this process is affected. Taken together, these data demonstrate the key role of phosphatidylinositol 3-phosphate pathway in

autophagy, differentiation and cell cycle progression in *T. cruzi*.

BMC-097

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

Lucía Bilbao¹, Beatriz Garat², José Sotelo¹, Leticia Pérez², Pablo Smircich¹

¹Departamento de Genómica, IIBCE, Montevideo, Uruguay. ²SGF, 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* (axénicas) 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.

BMC-103

Genoma core de *Trypanosoma cruzi*: arquitectura, evolución y variabilidad entre cepas

Guadalupe Romer¹, Virginia Balouz¹, Luisa Berna², Carlos A Robello², Carlos A Buscaglia¹

¹IIBio, San Martín, Argentina. ²Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay

T. cruzi (Tc) es un taxón formado por múltiples cepas agrupadas en 6 linajes evolutivos (DTU). Su genoma consta de un compartimento disruptivo, rico en retroelementos y enormes familias de genes variables (>250 copias/haplotipo), y un compartimento core, que incluye genes o familias discretas de genes (<35 copias/haplotipo), homogéneos. Aquí analizamos la diversidad del genoma core entre DTUs, usando de modelo familias génicas conservadas en tripanosomátidos (esenciales) y Tc-específicas (adaptativas). A partir de una base de datos con los genes anotados en la cepa TCC, rastreamos secuencias homólogas en ensamblados crudos de genomas NGS. Los hits se filtraron en base a parámetros estructurales (identidad, largo de secuencia) mediante un script ad hoc, los validamos manualmente y los mapeamos en los respectivos genomas. A diferencia de estudios previos, esta estrategia nos permite hacer comparaciones genómicas válidas, basadas en un criterio común de 'anotación' para todos los genes evaluados. En líneas generales, observamos una mayor dispersión en el nº de secuencias/DTU en familias adaptativas, lo que correlaciona con una frecuencia mayor de pseudogenes. Para ambos tipos de familias, observamos que la ganancia en el nº de secuencias no se refleja en el conteo de

contigs, ni tampoco en una mayor variabilidad entre genes, sugiriendo que obedecen mayormente a eventos de duplicación no seguidos de transposición y/o diversificación, a diferencia de lo que ocurre en el genoma disruptivo. Más allá de TcV y TcVI, que muestran en general una duplicación de dosaje consistente con su carácter híbrido, la DTU más discordante es TcIV. En este linaje encontramos amplificaciones/reducciones significativas en el dosaje génico de distintas familias, e incluso variaciones en el nº de contigs (loci). Estos resultados, todavía preliminares, permiten capturar la variabilidad del genoma core de Tc y facilitarán estudios funcionales futuros en este patógeno de gran relevancia regional.

BMC-104

Tiorredoxinas en *Entamoeba histolytica*: un enfoque interactómico con potencial para profundizar en el estudio del metabolismo

Franco Birocco¹, Sergio A Guerrero¹, Alejo Cantoia², Germán L Rosano², Eduardo A Ceccarelli², Alberto A Iglesias¹, Diego G Arias¹

¹Laboratorio de Enzimología Molecular – IAL (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina. ²Unidad de Espectrometría de Masa Instituto de Biología Molecular y Celular, Rosario, Argentina

El parásito intestinal *Entamoeba histolytica* es el agente causal de la amebiasis. Este protozoo usualmente vive y se multiplica en el interior del intestino humano. Sin embargo, durante la invasión a tejidos, *E. histolytica* se encuentra expuesta a cantidades elevadas de especies reactivas del oxígeno (ROS) exógenas, lo que resulta altamente tóxico para el patógeno. Se ha propuesto a la cisteína como el principal tiol intracelular y uno de los compuestos responsable del mantenimiento del balance redox intracelular. En este trabajo, presentamos el estudio de tres tiorredoxinas canónicas, EhTRX8, EhTRX41 y EhTRX6, y una no canónica, EhTRX289. Estas proteínas obtenidas por expresión recombinante en *Escherichia coli* presentaron estructura monomérica, y ensayos bioquímicos mostraron

que las TRXs son capaces de catalizar la reducción in vitro de disulfuros de baja masa molecular derivados de GSSG y cisteína, siendo sólo las canónicas capaces de reducir disulfuros de alta masa molecular como los de la peroxirredoxina de dos cisteínas típica EhPrx2Cys. El ensayo de pull-down se realizó para las TRXs recombinantes mutantes en la cisteína resolutive (C/S), que fueron inmovilizadas e incubadas con extractos celulares del parásito, lo que permitió recuperar las proteínas interactoras y analizarlas por LC-MS/MS para obtener los perfiles de interacción proteína-proteína. Estos resultados, evidenciaron patrones de interacción diferenciales entre las distintas isoformas, mostrando que se encontrarían relacionadas a proteínas que intervienen en diferentes procesos celulares, como los de defensa al estrés oxidativo y los de transducción de señales, ampliando las posibilidades de estudio y profundización de los procesos metabólicos en este microorganismo. Para nuestro entender y saber, esta es la primera interactómica comparativa de distintas isoformas de TRXs de *E. histolytica*.

Financiado por ANPCyT (PICT2017-2268).

BMC-106

Molecular dynamics simulations to elucidate the aggregation mechanisms of the aldose-keto reductase protein in *Trypanosoma cruzi*

Pablo A Trujillo^{1,2}, Guadalupe Alvarez³, Sebastian Aduviri², Patricia Garavaglia⁴, Carmen Domene⁵, Eliana Ascuito⁶, Juaquin Canata⁷, Gabriela A Garcia⁴, Monica A Pickholz^{8,2}

¹University of Buenos Aires, Faculty of Exact and Natural Sciences, Department of Physics., Buenos Aires, Argentina. ²CONICET-University of Buenos Aires, Physics Institute of Buenos Aires (IFIBA), Buenos Aires, Argentina. ³School of Science and Technology, National University of San Martín (UNSAM), ICIFI, CONICET, Buenos Aires, Argentina. ⁴National Institute of Parasitology "Dr. Mario Fatała Chaben"- ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina. ⁵Department of Chemistry, University of Bath, Bath, United Kingdom. ⁶School of Science and Technology, National University of San Martín (UNSAM), ICIFI, CONICET, Buenos Aires, Argentina. ⁷Institute for Biotechnological Research (IIB-INTECH) "Dr. Rodolfo A.

Ugalde”, National University of General San Martín-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ⁸University of Buenos Aires, Faculty of Exact and Natural Sciences, Department of Physics, Buenos Aires, Argentina

Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, is considered a neglected tropical disease and affects more than 7 million people in the Americas. The enzyme Aldo-keto reductase of *T. cruzi* (TcAKR) is a biological target of interest due to its potential involvement in the metabolism of trypanocidal drugs. Experimental kinetic studies demonstrated that TcAKR exhibits both aldo-keto reductase (AKR) and quinone oxide reductase (QOR) activities, with hyperbolic kinetics and sigmoidal kinetics, respectively. In agreement with the sigmoidal kinetics, experimental techniques indicated that TcAKR can form oligomers. In this context, our goal was to obtain molecular information about the stability of the multimeric forms through computational molecular dynamics simulations (MD). To achieve this, we pursued two strategies. Firstly, we evaluated the stability of preassembled dimers, and secondly, we analyzed the temporal evolution of aggregation starting from eight TcAKR molecules sufficiently separated from each other. We discovered that TcAKR molecules are stable in dimeric forms and can also form stable supramolecular structures. In the case of supramolecular arrangements, we found a preferential motif where a central monomer interacts with three neighboring monomers. This arrangement is consistent with the formation of tetramers. Additionally, we identified key residues involved in the aggregation process and the structural characteristics that promote and stabilize the oligomers structure. These computational studies on the aggregation states of TcAKR can guide further experimental research and assist in the rational design of synthesis strategies that allow for the modulation of aggregation.

BMC-114

Análisis de la localización intracelular de las GTPasas pequeñas Rab1 y Rab5a en *Trypanosoma cruzi*.

Marcos Schiopetto, Florencia Dipp, Raquel Parada-Puig, María de los Milagros Cámara, Juan Mucci

IIB-UNSAM-CONICET, San Martín, Argentina

Trypanosoma cruzi agente causal de la enfermedad de Chagas. Este parásito posee varias proteínas de membrana que son críticas para el proceso infeccioso, sin embargo su tráfico intracelular está poco estudiado. Este tráfico se encuentra mediado por proteínas de tipo Rab GTPasas, las cuales desempeñan un papel crucial en procesos como la gemación de vesículas, su transporte, anclaje y unión a las membranas. En estudios previos hemos demostrado que la Rab11, que se encuentra localizada en la vacuola contráctil, juega un papel en el tráfico de factores de virulencia importantes, como la *trans*-sialidasa. A diferencia de otros organismos eucariotas que poseen más de 70 proteínas tipo Rab con diversas funciones, en *T. cruzi* se ha identificado un número considerablemente menor, y muchas de estas proteínas aún no se conoce su localización subcelular o su función. En esta línea de estudio, nos enfocamos en la localización de las proteínas Rab1 y Rab5a, cuya ubicación intracelular es desconocida en *T. cruzi*. Mediante una búsqueda bioinformática, los genes de ambas proteínas fueron identificados y se alinearon con sus respectivos ortólogos de *T. brucei* y *Leishmania*. Posteriormente, clonamos y transfectamos ambos genes en la cepa Sylvio X10 utilizando el vector *pTEX* para generar las proteínas de fusión GFP-Rab1 y HA-Rab5a, y determinamos su localización subcelular mediante microscopía de inmunofluorescencia. En el caso de la GTPasa Rab1 observamos que se localiza en el aparato de Golgi dada su colocalización con la proteína marcadora GRASP, entretanto la proteína Rab5a mostró una localización particular, distinta a la observada para proteínas residentes del aparato de Golgi, la vacuola contráctil o reservosomas. Sin embargo, hemos observado una asociación con el retículo endoplasmático por estudios de colocalización con la proteína marcadora calreticulina. La caracterización de este tipo de proteínas abre una nueva gama de blancos para tratamientos para esta enfermedad.

BMC-115

Primeras evidencias de la presencia de una enzima tipo aminoacil-tRNA:proteína Transferasa en el parásito *Trypanosoma cruzi*

Vanesa Puente^{1,2}, Laura Fraccaroli¹, Luciana Larocca¹, Elisa Lombardo², Carolina Carrillo¹

¹ICT-Milstein, Buenos Aires, Argentina. ²CIPYP, Buenos Aires, Argentina

La enzima aminoacil-tRNA: proteína transferasa participa en el mecanismo de degradación de proteínas conocido como N-rule en diversos tipos celulares. Su función consiste en transferir un aminoácido desde un tRNA hacia la proteína target para su degradación vía proteosoma. Esta enzima ha sido propuesta como posible blanco terapéutico en bacterias y protozoos como *Plasmodium* y *Leishmania*. A partir de la secuencia de *Leishmania major* (LmjF.21.0725) buscamos el gen ortólogo en el genoma de *T. cruzi* utilizando Trityps y se identificó la secuencia TcCLB.506977.40 que codifica para una proteína hipotética de 360 aminoácidos (XP_811882) a la cual llamamos TcATEL1. Su análisis *in silico* mediante AlphaFold y VMD mostró la presencia de un dominio transferasa, con 96% de similitud con los dominios reportados en otras especies, conservando los residuos metionina 301 y alanina 268 (relevantes para la función de su homóloga en *E. coli*). Además, la comparación de esta proteína con su homóloga en humanos mostró diferencias significativas, lo que podría permitir el diseño de drogas específicas contra TcATEL1. A partir del ADN extraído de epimastigotes cepa CL Brener (CLB) se realizó una PCR del gen completo, obteniéndose una banda de 1080 pb (consistente con el tamaño esperado). La traducción *in silico* del producto secuenciado confirmó una similitud del 97% con el dominio transferasa previamente descrito. Mediante RT-PCR se obtuvieron dos bandas: una del tamaño esperado y otra de 800 pb. Este resultado, confirma la expresión del gen en estudio y muestra la presencia de 2 tipos de transcritos, posiblemente obtenidos por sitios alternativos del trans-splicing. En conclusión, hemos identificado a la proteína TcATEL1, que

podría tener función de aminoacil-tRNA:proteína transferasa. Dado que se trata de una enzima celular esencial y que presenta diferencias con la reportada en humanos, resulta un potencial target molecular para el desarrollo de inhibidores con efecto anti-*T. cruzi*.

BMC-116

La enzima TcATEL1 como posible sensor de Hemo en *Trypanosoma cruzi*

Vanesa Puente^{1,2}, Laura Fraccaroli¹, Luciana Larocca¹, Elisa Lombardo², Carolina Carrillo¹

¹ICT-Milstein, Buenos Aires, Argentina. ²CIPYP, Buenos Aires, Argentina

La enzima aminoacil-tRNA:proteína transferasa participa en el mecanismo de degradación de proteínas conocido como N-rule y ha sido reportada como sensor de los niveles de hemo intracelulares en diversos tipos celulares. Nuestro grupo identificó en el genoma de *T. cruzi* la secuencia TcCLB.506977.40 como candidata a codificar una aminoacil-tRNA:proteína transferasa a la que llamamos TcATEL1; y confirmamos la presencia del gen (por PCR) y su expresión (por RT-PCR) en la cepa CL Brener (CLB). Dado que *T. cruzi* es auxótrofo para hemina, y ésta es vital para el parásito, evaluamos por RT-PCR semicuantitativa (usando el gen GAPDH como control) la expresión del gen TcATEL1 bajo diferentes condiciones de cultivo, como potencial mecanismo de sensado. Cuando los parásitos se cultivaron deprivados de hemina (hem) durante 120 hs (5 días), se observó un aumento del 200% de TcATEL1 a las 6 hs; y entre las 24 hs y 120 hs se mantuvo en 162,9%. A los 5 días de deprivación, se les agregó hemina en distintas concentraciones (0, 5, 10, 15 y 20 mg/L). Con el agregado de 10 mg de hem/L de medio, se recuperaron los niveles basales de TcATEL1 a partir de las 6 hs, mientras que con 5 y 15 mg de hem/L de medio, dicha condición se alcanzó a partir de las 48 hs; estos cultivos presentaron morfología y proliferación normal. Por otro lado, los cultivos con 0 o 20 mg/L mantuvieron elevados los niveles de expresión de TcATEL1;

sin embargo, los parásitos a 20 mg/L presentaron una morfología y proliferación normal a diferencia de los cultivos a 0 mg/L que presentaron una morfología alterada y murieron luego del segundo repique. Estos resultados sugieren que la expresión de TcATEL1 podría modularse frente a cambios en la concentración de hemo en el medio de cultivo, funcionando como una proteína sensora de los niveles de hemo; y nos alientan a avanzar en los estudios para comprender la relación entre la modulación de TcATEL1 y el mecanismo de N-rule frente a la variación de hemo en *T. cruzi*.

IPH-Interacción parásito-hospedero

IPH-027

Invasión de *Neospora caninum* en cultivos celulares primarios de trofoblasto caprino

Betiana E Alvarez¹, Magdalena Rambeaud¹, Lucía M Campero², María C Venturini¹

¹LAINPA, FCV-UNLP, La Plata, Argentina. ²IPADS, CONICET-INTA Balcarce, Balcarce, Argentina

El parásito apicomplexa *Neospora caninum* es responsable de abortos en vacunos y, en menor proporción, en otros rumiantes como cabras, ovejas y ciervos. En nuestro país se aislaron dos cepas de origen vacuno, NC-Argentina LP1 y NC-Argentina LP2. Si bien la virulencia de dichos aislados se ha caracterizado en líneas celulares, no existe información sobre su comportamiento en cultivos primarios placentarios, siendo ésta una de las principales poblaciones celulares blanco en la interacción parásito-hospedador, pudiendo resultar en un aborto o transmisión congénita. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la tasa de invasión de NC-Argentina LP1 con respecto a la cepa de referencia NC-1 en cultivos primarios provenientes de trofoblasto caprino. Se realizó el cultivo primario a partir de cotiledones de una cabra seronegativa a *N. caninum* y *Toxoplasma gondii* mediante el método de explante. Se sembraron 10⁵ células

placentarias (pasaje 4) por pocillo en placas de 24 pocillos hasta lograr su confluencia (48 hs). Luego se infectaron los cultivos (3 réplicas) con 10⁴ taquizoítos/pocillo de cada cepa en 3 ensayos independientes. A las 48 hs post-infección se cuantificó la tasa de invasión realizando el inmunomarcaje de vacuolas parasitóforas (VP) con un suero hiperinmune anti-*N. caninum* y el conjugado correspondiente (Alexa Fluor 488, Life Technologies) y tinción DAPI. Se contabilizaron 50 campos por réplica y se cuantificó el tamaño de las VP. La cepa NC-Argentina LP1 mostró menor tasa de invasión que la cepa de referencia (5.9 versus 21 respectivamente; p<0.05). Se evaluó el tamaño del 10% de las VP contabilizadas, no observándose diferencias entre las cepas estudiadas (23,8µm para NC-Argentina LP1 y 20,7µm para NC-1). Estos resultados sugieren que NC-Argentina LP1 presenta menor virulencia en cultivos primarios de trofoblasto caprino respecto a la cepa de referencia NC-1; no obstante, demuestra su capacidad de invadir y replicarse en esta población celular.

IPH-028

Estudio de microparásitos de peces dulceacuícolas de la Cuenca del Río de la Plata.

Yamila V Reshaid¹, Paula S Marcotegui²

¹CEPAVE, La Plata, Argentina. ²IIMyC, Mar del Plata, Argentina

En Argentina, existen escasos registros de microorganismos que parasitan peces dulceacuícolas. Con el objetivo de estudiar la diversidad de dichos microparásitos, se realizaron 19 muestreos en 7 arroyos y canales afluentes al Río de la Plata, entre junio de 2019 y agosto de 2023. Los peces fueron capturados mediante diferentes artes de pesca. Se colectaron un total de 665 peces pertenecientes a 4 órdenes: Characiformes, Cyprinodontiformes, Perciformes y Siluriformes. Los peces capturados fueron trasladados y mantenidos vivos en acuarios separados por especies. Para cada pez hospedador, previa desmedulación, se registró el peso y la longitud total y estándar. El análisis

parasitológico se realizó siguiendo el protocolo modificado de Marcogliese (2007). La presencia de microparásitos fue registrada según su ubicación en el hospedador y cada individuo se estudió y se fotografió “in vivo”. Además, para los ciliados se realizaron preparados teñidos con Giemsa y Nitrato de Plata para el estudio de núcleos y del disco adhesivo. Adicionalmente, se conservaron ejemplares de todos los grupos en alcohol 96° con el fin de realizar estudios moleculares. Los microparásitos hallados fueron identificados como: *Myxobolus* sp, *Henneguya* sp, *Unicauda* sp (Phylum Myxozoa), *Trichodina* sp, *Ambiphrya* sp, *Apiosoma* sp y *Epistylis* sp (Phylum Ciliophora). Futuros estudios morfológicos y moleculares son necesarios para aportar conocimiento acerca de estos microorganismos.

IPH-108

Dilucidando el rol de TcBDF7 en los mecanismos de replicación e infectividad de *Trypanosoma cruzi*.

Virginia G Perdomo^{1,2}, Victoria Boselli^{3,2}, Esteban Serra^{3,2,1}

¹FCBF-UNR, Rosario, Argentina. ²CONICET, Rosario, Argentina. ³IBR, Rosario, Argentina

En *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) la transcripción, replicación y reparación del ADN se encuentran altamente reguladas por el grado de compactación de la cromatina, mediada principalmente por proteínas chaperonas de histonas como TcBDF7. Objetivo: evaluar la funcionalidad de TcBDF7 en la replicación, metacicloogénesis e infectividad de *T. cruzi*. Metodología: El gen BDF7 fue lesionado en epimastigotes de *T. cruzi* (cepa Dm28c), mediante la técnica de CRISPR-Cas9. Se seleccionaron clones hetero- y homocigotas negativos (TcBDF7^{-/-} y TcBDF7^{-/-}, respectivamente). Se evaluó: 1) replicación: mediante curvas de crecimiento de epimastigotes de las distintas cepas, cuantificando el número de epimastigotes/ml, durante 7d. 2) metacicloogénesis: epimastigotes de las distintas cepas fueron sometidos a estrés por incubación 7d, 28°C en medio LIT pH:6; se cuantificó el porcentaje de metacicloogénesis. 3) capacidad infectiva: se

infectaron células Vero con tripomastigotes metacíclicos (MOI: 10:1, 24 h). Al D4 y D5 p.i. se cuantificó la tasa de infección y liberación de tripomastigotes. Los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA. Resultados: TcBDF7 no sería una proteína esencial para el desarrollo de epimastigotes de *T. cruzi*, dado que se obtuvieron cepas hetero- y homocigota negativos. Sin embargo, estas cepas presentan una tasa de replicación significativamente menor a Dm28c. La delección del gen de TcBDF7 aumenta la tasa de metacicloogénesis (Dm28c:28±2%; TcBDF7^{+/-}:70±6%; TcBDF7^{-/-}:54±4%), disminuye el % de células infectadas (Dm28c:4,0±0,4%; TcBDF7^{+/-}:1,4±0,4%; TcBDF7^{-/-}:0,3±0,2%), la relación amastigotes/célula infectada (Dm28c:14±5; TcBDF7^{+/-}:6±2; TcBDF7^{-/-}:2±1) y la concentración de tripomastigotes liberados p.i. (Dm28c:2,08±0,57; TcBDF7^{+/-}:0,17±0,05; TcBDF7^{-/-}:0,04±0,05 x10⁶/ml). Es decir, TcBDF7 interviene en mecanismos de replicación, metacicloogénesis e infectividad de *T. cruzi*, pudiendo ser un importante blanco terapéutico para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

IyV-Inmunología y Vacunas

IyV-001

Explorando la utilidad de los parásitos *Echinococcus granulosus*, *Taenia crassiceps* y *Mesocestoides corti* para estudiar la inmunidad concomitante heteróloga en cestodiasis.

Gustavo Mourglia-Ettlin¹, María E. Ancarola², María E. Santana², Sebastián Miles¹, Marcela Cucher²

¹Área Inmunología - DEPBIO - Facultad de Química, UdelaR., Montevideo, Uruguay. ²IMPpM, UBA-CONICET. Facultad de Medicina, UBA., Buenos Aires, Argentina

La Inmunidad Concomitante Heteróloga (ICH) es el fenómeno por el cual un hospedero parasitado por un cestodo, desarrolla resistencia simultánea frente al desafío con otra(s) especie(s) de cestodos. La literatura

disponible corresponde mayoritariamente a análisis epidemiológicos, siendo escasos los estudios experimentales que demuestren una influencia directa de la respuesta inmune del hospedero sobre la ICH. Por ello, exploramos aquí la utilidad de tres parásitos cestodos (*Echinococcus granulosus*, *Taenia crassiceps* y *Mesocestoides corti*) para evaluar la relevancia de los anticuerpos del hospedero sobre la ICH. Primero, partimos de sueros provenientes de ratones Balb/c y C57Bl/6 infectados con protoscoleces (PSC) de *E. granulosus*, y realizamos transferencias pasivas en ratones CF-1 seguidas de desafíos con cisticercos (CC) de *T. crassiceps*. Utilizamos sueros de ratones Balb/c y C57Bl/6 por corresponder a cepas de alta y baja permisividad a la infección por *E. granulosus*, respectivamente. Luego de tres semanas, la transferencia de suero de ratones C57Bl/6 (controles e infectados) redujo significativamente el tamaño promedio y máximo de los CC, así como la carga parasitaria. Luego, utilizamos gammaglobulinas séricas provenientes de ratones Balb/c y C57Bl/6 inmunizados con antígenos tegumentarios de PSC, y evaluamos su acción cestocida heteróloga en cultivos axénicos de CC y de tetratiridios (TTY) de *M. corti*. En este sentido, solo las gammaglobulinas obtenidas de ratones C57Bl/6 inmunizados mostraron efectos cestocidas significativos, tanto directos como mediados por complemento, sobre los TTY; sin grandes efectos sobre los CC. En suma, los resultados preliminares aquí reportados, sugieren que los anticuerpos inducidos específicamente contra *E. granulosus* condicionarían la susceptibilidad del hospedero frente al desafío con *T. crassiceps* y/o *M. corti*, constituyendo un interesante modelo para el estudio del fenómeno de ICH reportado en diversas cestodiasis.

IyV-004

El polimorfismo IL6-174G>C y su relación con la susceptibilidad a la infección por *Toxocara canis*: estudios preliminares

Pilar Medrano¹, María de los A. López¹, María Viviana Bojanich^{2,1}

¹IMR-UNNE, Resistencia, Argentina. ²FaCENA- UNNE, Corrientes, Argentina

La Toxocariasis es una zoonosis de distribución mundial, causada por *Toxocara canis*, un helminto propio de los perros. La respuesta inmune característica de esta infección es de tipo Th2. Altos niveles de IL-6 en suero pueden polarizar la respuesta inmune al tipo Th17, lo cual impediría una correcta defensa contra el patógeno. El polimorfismo IL6-174G>C, en la región promotora del gen de IL-6, produce una variante funcional que exhibe mayor actividad transcripcional y se asocia con niveles más elevados de IL-6 plasmática. Objetivo: Determinar la existencia de una asociación entre el polimorfismo IL6-174G>C y la susceptibilidad a la toxocariasis.

Se estudiaron 60 pacientes con sospecha de toxocariasis. Previo consentimiento, se extrajo sangre para la investigación de anticuerpos anti-*Toxocara* por ELISA y extracción de ADN con CTAB. Se amplificó el fragmento de interés del gen de IL-6 por nested-PCR y se determinaron los genotipos mediante corte con la enzima de restricción HSP92II. El análisis estadístico se realizó mediante prueba de Chi cuadrado (nivel de confianza 90%).

Del total de pacientes estudiados, 19 (31,6%) resultaron con serología positiva para *Toxocara*; de los cuales, 17 (89,5%) presentaron el genotipo GG, 1 (5,25%) el genotipo GC, y 1 (5,25%) el genotipo CC. De las 41 muestras negativas, 30 (73,2%) presentaron el genotipo GG, 11 (26,8%) el genotipo GC, y no se encontró ninguno con el genotipo CC. Se realizó una prueba de independencia de Chi2 con un valor observado de 5,62 y valor crítico de 4,61.

Las diferencias en las frecuencias genotípicas encontradas en los pacientes con serología positiva y negativa son estadísticamente significativas. Estos resultados sugieren que el genotipo GC estaría brindando protección contra la infección por *T. canis*, debido a que menores niveles de IL-6 permiten una mayor eficiencia en la defensa inmunológica contra el parásito. Son necesarios futuros estudios para confirmar estos resultados.

IyV-025

La inmunización con antígenos TcTASV de *Trypanosoma cruzi* estimula la producción de quimiocinas, previene el daño histológico y protege contra segundas infecciones con el parásito

Masip, YE^{1,2,*}; Pascua, T^{1,2}; Cosenza, M^{1,2}; Postan, M³; Molinari, Mp⁴; Tekiel, V^{1,2}

¹Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina, ²Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN), Universidad Nacional de San Martín, Argentina, ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina, ⁴Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO). INTA Castelar, Argentina. email: ymasip@iib.unsam.edu.ar

La familia multigénica TcTASV -única de *Trypanosoma cruzi* y conservada entre linajes- se divide en cuatro subfamilias: A, B, C y W. TcTASV-A se expresa en amastigotes y tripomastigotes y es intracelular. TcTASV-C es única de tripomastigotes, se localiza en la superficie de *T. cruzi* y es altamente secretada. Previamente reportamos que un candidato vacunal compuesto por TcTASV-C recombinante y baculovirus presentando a TcTASV-A en cápside, generaba una respuesta humoral y celular contra ambas TcTASVs. También, protegía ratones de distintas cepas (C3H/He, BALB/c) del desafío con una cepa altamente virulenta, controlando la parasitemia, y reduciendo la mortalidad (<10% vs 100% controles) y la carga parasitaria en tejidos. En este trabajo evaluamos la seguridad del esquema de vacunación -que no indujo alteraciones histológicas- y continuamos con el análisis de la respuesta inmune generada y el impacto en la infección. Post-vacunación, los niveles de VEGF (factor promotor de angiogénesis) y CCL3, CCL5 y CCL19 (quimiocinas reclutadoras de células de respuesta innata) estaban aumentados en sueros de ratones vacunados respecto a controles. Aún 80 días post-vacunación el

título de anticuerpos anti-TcTASV-C fue de 1/64.000. Por otra parte, en la fase crónica de la infección los animales vacunados presentaban menos focos parasitarios, infiltrados inflamatorios y daño histológico que los controles, concordando con resultados previos de menor carga parasitaria en tejidos (qPCR). Además, ratones vacunados y en fase crónica de la infección que fueron re-desafiados con una dosis letal 100 veces mayor, no presentaron parasitemia ni mortalidad. En conjunto, estos resultados refuerzan el potencial de nuestro candidato vacunal. Actualmente estudiamos la efectividad del esquema frente al desafío con la cepa Acosta (Tcl), poco virulenta, cardiopática y que produce infección crónica en el modelo murino.

IyV-044

Evaluación de la protección brindada por un tratamiento mixto de vacuna y Benznidazol en la fase crónica de la infección por *Trypanosoma cruzi*

Paula I Cacik¹, Estefanía Ivan Prochetto¹, Mónica Perez Gianiselli², Ulises Cha¹, Ana R Perez^{3,4}, Iván S Marcipar¹

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

Los parasiticidas, disponibles para el tratamiento de la infección por *Trypanosoma cruzi*, no han mostrado ser suficientemente efectivos en la fase crónica de la enfermedad. Por lo que es crucial investigar nuevas alternativas, como las vacunas terapéuticas, que podrían mejorar los tratamientos existentes al modular la respuesta inmunológica.

Previamente, en el grupo de trabajo se reportó un tratamiento mixto en ratones BABL/c infectados en forma crónica con *T. cruzi*. Este consistió en una vacuna formulada con un

fragmento de Transialidasa y adyuvante ISPA (TSNt-ISPA), seguido por la administración de Benznidazol (Bz). En este trabajo se profundizó el estudio de dicho modelo. Se estudiaron 5 grupos de ratones: G1, sólo recibió la vacuna (TSNt-ISPA); G2, sólo el benznidazol (Bz); G3, recibió la vacuna y luego el Bz (TSNt-ISPA-Bz); G4, no recibió tratamiento; G5 no fue infectado ni tratado.

La formulación TSNt-ISPA se administró en tres dosis subcutáneas, a los 92, 102 y 112 días post infección (dpi). El tratamiento con Bz se aplicó durante 30 días consecutivos en una dosis de 100 mg/kg/día por vía oral, desde el 135 dpi al 165 dpi. Se tomaron muestras a tres tiempos distintos: 98 dpi (antes de tratar), 132 dpi (luego de las inmunizaciones) y en el punto final del experimento, 198 dpi (luego del tratamiento con el parasiticida).

Antes y después de los tratamientos, se evaluaron en suero los anticuerpos IgG1 y IgG2a contra homogenato total y antígeno vacunal (TSNt), óxido nítrico y TGF β como marcadores del estado inflamatorio y transaminasas séricas GOT, GPT, CK-MB como marcadores de la severidad de enfermedad. También se determinó infiltrado inflamatorio y fibrosis en corazón. Los resultados parciales del tratamiento mixto mostraron valores significativos ($p < 0,05$) en la disminución del daño tisular, de la respuesta inflamatoria sistémica y las transaminasas. También los niveles de IgG2a contra homogenato disminuyeron en este grupo ($p < 0,05$).

IyV-047

Evaluación de la respuesta inmune y la capacidad protectora de distintas isoformas del antígeno polimórfico TSSA de *Trypanosoma cruzi*

Paula I Cacik¹, Estefanía Prochetto¹, Guadalupe Romer^{2,3}, Virginia Balouz^{2,3}, Gabriel Cabrera¹, Carlos Buscaglia^{2,3}, Iván S Marcipar¹

¹Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. ²Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBio), Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), and Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. ³Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN), UNSAM, Buenos Aires, Argentina, Buenos Aires, Argentina

El antígeno TSSA es una proteína de superficie de tripomastigotes de *T. cruzi*, involucrada en la invasión de las células blanco. TSSA presenta polimorfismos en los distintos DTUs definidos en este parásito, siendo las isoformas TSSAI, TSSAIII y TSSAIV específicas de los DTUs TcI, TcIII y TcIV, respectivamente, mientras que TSSAII se restringe a los DTUs TcII, TcV y TcVI. Previamente mostramos que las distintas isoformas de TSSA muestran distintas propiedades funcionales, lo que podría aportar a la variabilidad biológica y clínica observada entre cepas de *T. cruzi*. En este trabajo, se evaluó la capacidad protectora y la inmunogenicidad B y T de las isoformas TSSAI y TSSAII en un modelo de infección de ratones Balb/c con la cepa Tulahuen (TcVI). Grupos de 5 animales se inmunizaron con 3 dosis de TSSAI o TSSAII (espaciadas cada 15 días, c/u conteniendo 10 μ g de antígeno recombinante de fusión a GST, formulado en adyuvante ISPA) y 15 días después se desafiaron una dosis letal de parásitos. En las condiciones ensayadas, ninguno de los antígenos brindó protección significativa respecto del grupo control, inmunizado con PBS. En paralelo, se evaluaron las respuestas B y T TSSA-específicas en ratones BALB/c inmunizados siguiendo el mismo esquema. Las determinaciones anticuerpos IgG1 e IgG2a fueron positivas para TSSAII pero negativas para TSSAI ($p < 0,05$). Al contrario, los % de linfocitos T CD4, CD8, CD4-CD44 y CD8-CD44 de bazo fueron superiores para animales inmunizados con TSSAI ($p < 0,05$). La respuesta de hipersensibilidad retardada también fue superior (aunque no significativa) para TSSAI. Estos resultados indican que las respuestas contra TSSA no resultan protectoras en el modelo usado, aunque queda pendiente la evaluación de TSSAI frente al desafío con cepas TcI. Estos datos también muestran que, a pesar de su altísima homología estructural, las isoformas TSSAI y TSSAII muestran diferencias en su inmunogenicidad e inducen distinto tipo de respuesta inmune en el mamífero.

IyV-074

Fenofibrato inhibe la respuesta inflamatoria y promueve un perfil resolutivo en macrófagos cardíacos.

Consecuencia sobre el desarrollo de fibrosis en un modelo agudo de infección con *T. cruzi*

Javier Ruiz Luque¹, Carolina Poncini², Fernando Erra¹, Marcus V. Reis¹, Ágata Cevey¹, Azul Perialisi¹, Martín Donato³, Gerardo Mirkin², Nora Goren¹, Federico Penas¹

¹INBIRS, UBA - CONICET, CABA, Argentina. ²IMPaM, UBA - CONICET, CABA, Argentina. ³INFICA, Facultad de Medicina - UBA, CABA, Argentina

Los macrófagos (M ϕ) desempeñan un papel protagónico en la respuesta inflamatoria cardíaca frente a la infección con *T. cruzi* (Tc). Por su versatilidad funcional, la manipulación de estas células puede favorecer la reparación de tejidos y la defensa contra patógenos. Los PPAR α están involucrados en el metabolismo de lípidos y en la regulación de la inflamación. Recientemente, demostramos que los M ϕ juegan un papel relevante en los efectos de fenofibrato (Fen), ligando de PPAR α , en un modelo crónico de infección con Tc. Sin embargo, el efecto de este ligando sobre los macrófagos cardíacos (cM ϕ) en las primeras etapas de la infección no ha sido explorado. Se infectaron ratones C57BL/6 con Tc y se trataron con 100 mg/kg/día de Fen durante 14 días. Fen no modifica la parasitemia, ni el peso, ni la supervivencia de los ratones infectados. Luego, encontramos que Fen disminuye la expresión cardíaca de iNOS, IL-6, TNF- α y CCR2 y aumenta la expresión de CD206, YM1, PPAR α , FIZZ e IL-10 (RT-qPCR). Estos resultados concuerdan con una disminución de los focos inflamatorios cardíacos (H&E). A su vez, evaluamos M ϕ (CD11b+LY6C+F4/80+) de células mieloides cardíacas purificadas y observamos que Fen disminuye el perfil M1 (CD206-) y aumenta el perfil M2 (CD206+) (FACS). Además, Fen regula negativamente a iNOS y aumenta a Arg I en células mieloides y tejido cardíaco (WB). Al evaluar la eferocitosis de cM ϕ , observamos que Fen aumenta la actividad eferocítica, destacando la capacidad de resolución de estas células (FACS). Finalmente, observamos que Fen mitiga la acumulación de colágeno (rojo picrosirius), al tiempo que regula los niveles de ARNm de mediadores fibróticos (RT-qPCR). En resumen, Fen modula la respuesta inflamatoria, modifica el perfil de cM ϕ y previene el desarrollo de

fibrosis cardíaca en la etapa aguda de la infección. Estos resultados son la base de futuros estudios que respalden la combinación de una terapia antiinflamatoria que acompañe al tratamiento antiparasitario.

IyV-081

Estudio de la esplenomegalia crónica parásito específica en ausencia de Galectina-8

Juan Ignacio Saborit¹, Adriano Bertelli¹, Laura Vanagas², Sergio Angel², María Susana Leguizamón¹

¹IIBio - UNSAM - CONICET, General San Martín, Buenos Aires, Argentina. ²INTECH - UNSAM - CONICET, Chascomús, Buenos Aires, Argentina

Las galectinas son lectinas con afinidad por β -galactósidos que modulan la respuesta inmune tanto en eventos homeostáticos como patológicos. Sin embargo, el rol de la galectina-8 (Gal-8) en el desarrollo del proceso inflamatorio sigue siendo controversial. Previamente comunicamos que en el contexto de la infección crónica por *Trypanosoma cruzi* en ratones C57BL/6J (WT) y Gal-8 *knockout* (Gal-8KO), Gal-8 participa como molécula antiinflamatoria. Observando que, pese a no haber diferencias en la sobrevivencia ni en los niveles de carga parasitaria entre los grupos estudiados, los ratones Gal-8KO infectados desarrollaron una esplenomegalia crónica persistente, provocada principalmente por el aumento de las poblaciones T CD4⁺ y CD8⁺. Con el fin de comprender si este fenómeno es extrapolable a otros escenarios infecciosos, nos propusimos analizarlo en el contexto de la infección crónica con *Toxoplasma gondii*. Para ello, infectamos ratones WT y Gal-8KO por vía intragástrica con la cepa Me49, que desarrolla quistes tisulares a los 30 días post-infección (dpi) iniciando la etapa crónica. En este trabajo, presentamos los resultados obtenidos a 45 dpi. Como había sucedido en la infección por *T. cruzi*, los grupos infectados presentaron una sobrevivencia y niveles de carga parasitaria similares, sugiriendo que Gal-8 no participa en el desarrollo del control inmunológico de estas infecciones. No obstante, no observamos diferencias en el peso de los bazo, ni en el número de esplenocitos totales. El análisis por citometría

de flujo reveló además que no existen diferencias en el número absoluto de ninguna de las poblaciones celulares estudiadas: leucocitos totales, linfocitos B, linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, células mieloides, macrófagos, monocitos, neutrófilos y células dendríticas. Estos resultados, si bien son preliminares, sugieren que la esplenomegalia persistente observada en ausencia de Gal-8 durante la infección crónica por *T. cruzi* podría tratarse de un fenómeno parásito específico.

IyV-095

Desarrollo de una estrategia vacunal contra *Trypanosoma vivax*: búsqueda y evaluación de candidatos

Genaro F Díaz¹, Larisa L Rossini¹, Amanda R Farías¹, Iván S Marciapar², Diego Arias², Iván A Bontempi¹

¹LTI FBCB UNL, Santa Fe, Argentina. ²IAL UNL CONICET, Santa Fe, Argentina

El *Trypanosoma vivax* (*T. vivax*) es el principal patógeno responsable de la Tripanosomiasis Bovina, que afecta fuertemente al ganado bovino en Sudamérica y África subsahariana. La infección se caracteriza por anemia, pérdida de la condición corporal, problemas reproductivos, aborto y muerte, generando grandes pérdidas económicas. Hasta la fecha no existe una vacuna, siendo los tratamientos antiparasitarios existentes poco protectivos. Por estos motivos, en este trabajo evaluamos diferentes antígenos (ag) de superficie de *T. vivax* para el desarrollo de una formulación protectora que combata el avance de la enfermedad. Seleccionamos ag de superficie mediante un análisis bioinformático de las proteínas expresadas en la superficie del parásito, considerando conservación, participación en la patogénesis e inmunogenicidad. Hasta la fecha, expresamos 4 antígenos: el ag27, ag39, ag45 y ag57, los formulamos con el adyuvante ISPA, el cual presenta gran capacidad de potenciar la respuesta inmune tanto humoral como celular, y los evaluamos en un modelo murino. Dichos grupos desarrollaron mayores niveles de anticuerpos específicos, respecto al grupo

control (P<0,001). Además, estimamos la respuesta celular mediante una reacción de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH), obteniéndose mayor activación, respecto al control (P<0,01). Luego, desafiamos a los grupos inmunizados con una dosis mortal de *T. vivax* de la cepa Y486 y evaluamos diferentes parámetros de protección. Al cabo de 42 días, todos los ratones del grupo control murieron, sin embargo, el grupo inmunizado con el ag27 presentó un 75% de supervivencia al día 62 post-infección (P<0,05). Además, dicho grupo presentó menor parasitemia, pérdida de peso y caída del hematocrito, denotando menor anemia, respecto al control (p<0,05). Concluimos que la formulación compuesta por el ag27 y el adyuvante ISPA tiene gran potencial como candidato vacunal para combatir la infección por *T. vivax*.

IyV-109

Caracterización de aislamientos de *T. cruzi* asociados a la transmisión vertical y su uso como antígeno para el estudio de la respuesta de linfocitos T CD4⁺ provenientes de mujeres embarazadas

Carolina González¹, Mariana Pinillo¹, Alina E Perrone¹, Natalia A Milduberg¹, Jacqueline Bua^{1,2}, Patricia L Bustos^{1,2}

¹INP-ANLIS, CABA, Argentina. ²CONICET, CABA, Argentina

La transmisión vertical de Chagas es la principal generadora de nuevos casos en ausencia de la transmisión vectorial. En trabajos anteriores realizamos estudios serológicos en mujeres embarazadas infectadas con *Trypanosoma cruzi* que nos permitieron determinar un perfil inmune diferencial asociado a la transmisión vertical. Las mujeres que dieron a luz bebés sin infección presentaron niveles séricos elevados de las citoquinas TNF- α , IL-17, IL-15, inclinándose hacia un perfil de respuesta Th17. Al contrario, en las mujeres cuyos bebés nacieron infectados, se observaron niveles elevados de IL-12, bajos niveles de TNF- α , IL-17, IL-15 y una baja relación TNF- α /IL-10. En nuestro laboratorio disponemos de aislamientos parasitarios provenientes de

mujeres que dieron a luz bebés sin infección y de bebés infectados por vía vertical. El objetivo de este trabajo fue caracterizarlos mediante genotipificación y utilizarlos como antígeno para estudiar la respuesta celular específica en linfocitos T CD4⁺.

La genotipificación mediante PCR mostró que los parásitos aislados de un bebé con infección vertical corresponden a la UDT V y que los parásitos provenientes de una mujer embarazada que dio a luz un bebé sin infección, mostraron una población mixta de UDT I y V.

Por otro lado, para caracterizar la respuesta celular específica se realizó el cultivo in vitro de PBMC estimulados con los lisados obtenidos a partir de estos aislamientos. Se determinó la expresión de las citoquinas IL-2, IL-10, IL-17, TNF- α , IFN- γ y la presencia de receptores inhibitorios CTLA-4, TIM-3 y PD-1 en linfocitos T CD4⁺ por citometría de flujo.

Estos ensayos nos permitirán profundizar el conocimiento acerca de la respuesta inmune contra *T. cruzi* durante el embarazo, de cuyo balance dependen el éxito del embarazo y el control de la transmisión vertical.

IyV-110

Desarrollo de un modelo murino de leishmaniasis visceral para su aplicación en ensayos preclínicos.

Rocio Cenizo¹, María A Delfino², Sebastián N Trinitario¹, Polina Dzvonyk¹, Alejandro C Cardoso^{2,1}, Natacha Cerny¹, Emilio L Malchiodi^{2,1}, Andrés Sanchez Alberti¹, Augusto E Bivona^{2,1}

¹IMPAM, CABA, Argentina. ²IDEHU, CABA, Argentina

Las *leishmaniasis* son un conjunto heterogéneo de enfermedades zoonóticas vectoriales causadas por parásitos protozoarios del género *Leishmania*. Dependiendo de la especie involucrada y el estado inmunológico del paciente, el cuadro clínico puede variar desde una lesión cutánea autolimitada hasta la forma visceral (leishmaniasis visceral, LV) que es altamente letal sin tratamiento.

Los tratamientos de la LV, enfermedad causada por las especies *L. infantum* y *L. donovani*., son costosos, tóxicos, complejos y, además, existe un creciente aumento de aislamientos

resistentes. Esto destaca la necesidad de evaluar nuevos fármacos o vacunas para el control del parásito, para lo cual la optimización de modelos experimentales es de suma relevancia. Los modelos murinos de LV descriptos resultan complejos por factores como la pérdida de virulencia de los promastigotes mantenidos en cultivos o el requerimiento de infecciones intravenosas.

En este contexto, evaluamos un modelo de infección visceral inoculando por vía intraperitoneal (IP) o intradermopltar (IDP) ratones BALB/c con 5x10⁷ promastigotes metacíclicos de *L. infantum* seleccionados a partir de cultivo por su resistencia al complemento. La infección se monitoreó evaluando el peso corporal y el aspecto general de los ratones, parámetros que han permanecido inalterados. Además, se evaluó mediante ELISA el título de anticuerpos séricos anti-*L. infantum* a los 30, 72 y 98 días post infección (dpi), observándose una cinética diferencial, aunque alcanzando títulos similares por ambas vías. Por último, a los 98 dpi evaluamos la presencia de parásitos en bazo e hígado por cultivo tisular y cuantificamos carga parasitaria por qPCR. Sólo la infección IP permitió recuperar parásitos a partir de bazo, sitio en el que se cuantificaron cargas de 0.25-10⁷ promastigotes/50 ng de ADN total. Es así que el modelo de infección por vía IP resulta atractivo para evaluar la eficacia de tratamientos y vacunas contra la LV en etapas preclínicas.

DyT-Diagnóstico y Tratamiento

DyT-003

Seropositivity rates as predictors of *Neospora caninum* congenital transmission in cattle

Miqueo Evangelina^a, Cruz Micaela Solange^a, Moore Dadin Prando.^{a,b}, Campero Lucía María^{b*}

^aFCA, UNMdP, Balcarce, Argentina, ^b IPADS- CONICET, Balcarce, Argentina.

This study aimed to determine how the level of antibodies to *N. caninum* in dairy cows

correlated with the occurrence of congenital transmission measured by ELISA. The study involved 59 cow/calf pairs from a dairy herd (n= 400) from Mar y Sierras Basin, Argentina. Serum samples from cows were obtained 9 days prepartum, along with samples from their calves at birth (pre-colostrum), 7, 14, and 63 days post-birth. A commercial ELISA kit was used for *N. caninum* antibodies detection (Neospora Civtest, HIPRA) and values were computed as relative index percent (RIPC). Seropositive cows (n= 17/59) exhibited a higher abortion likelihood. The vertical transmission rate was 88.2% (15/17). Two *N. caninum* seropositive cows gave birth to seronegative calves which maintained their serostatus throughout the study. Interestingly, among seropositive cows, there was a significant difference in RIPC values, where higher values were associated with successful vertical transmission (69.8 vs 7.8; $p= 0.01$). In addition, calves congenitally infected also had higher RIPC values compared to calves that seroconverted postnatally (32.0 vs 17.4; $p= 0.02$). Of the 44 seronegative calves at birth, 37 sustained negative serostatus throughout the study. However, seven seronegative calves seroconverted in one of the subsequent sampled intervals to then drop to undetectable levels in ulterior sampling ($r= -0.61$; $p= 0.003$). Colostrum samples from their mothers were negative by ELISA, which leads to the suspicion that these calves might have been fed from a colostrum bank positive to *N. caninum*. This study demonstrates a substantial transplacental transmission associated with higher RIPC in seropositive cows, and limited *N. caninum* exposure during the artificial rearing. The results obtained indicate that: higher antibody concentration (here expressed as RIPC) correlated with congenital transmission in both mothers and calves and the absence of horizontal transmission during the dairy calf rearing stage.

DyT-011

Desarrollo de un método diagnóstico serológico para la

neosporosis bovina a partir de proteínas recombinantes

Ruppel, Florencia^{1*}; Echeverría, Soledad¹; Giannitti, Federico²; Da Silva Silveira, Caroline²; Greif, Gonzalo¹; Cabrera, Andrés^{1,3}; Robello, Carlos^{1,4}

¹ Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno, Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. * Autor de correspondencia: fruppel@pasteur.edu.uy, ² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Plataforma de Investigación en Salud Animal, Colonia, Uruguay, ³ Departamento de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay, ⁴ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Neospora caninum es un parásito intracelular obligado del Phylum Apicomplexa, reconocido como una de las principales causas infecciosas de aborto y pérdidas reproductivas en el ganado bovino de carne y leche a nivel mundial, con gran impacto económico en la industria ganadera. Debido a que en la actualidad aún no se han formulado vacunas eficaces ni existe quimioprofilaxis, el diagnóstico cumple un rol esencial para la aplicación de medidas de control contra la neosporosis bovina. En tal sentido, el enfoque serológico poblacional tiene un rol importante en los sistemas productivos extensivos, en los cuales el diagnóstico etiológico directo es limitado.

Diferentes técnicas serológicas se han desarrollado para la detección de anticuerpos anti- *N. caninum*, basados en su mayoría en la utilización de extractos proteicos totales de taquizoítos. El inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) es una técnica objetiva, que puede realizarse a gran escala. Sumado a ello, recientemente se han identificado, purificado y caracterizado componentes antigénicos específicos de cepas locales de *N. caninum* en Uruguay. Estas proteínas de superficie inmunodominantes se obtuvieron de forma recombinante, soluble y estable, en un sistema de expresión en células de *Drosophila melanogaster*.

El enfoque del presente estudio fue estandarizar un ELISA indirecto para el diagnóstico de la neosporosis bovina, utilizando estas proteínas recombinantes con

el objetivo de mejorar la especificidad y sensibilidad, en comparación con un test desarrollado previamente con un extracto de proteínas totales de una cepa local del *N. caninum*.

DyT-022

La acetilación de histonas regula la resistencia a metronidazol en el parásito *Trichomonas vaginalis*

Daniela Muñoz, [Julieta L. Seifert Gorzycki](#), Pablo Strobl-Mazulla, Natalia de Miguel

INTECH (CONICET-UNSAM), Chascomús, Argentina

Trichomonas vaginalis es el agente causal de la enfermedad de transmisión sexual no viral más distribuida del mundo. La infección puede ocasionar desde irritación del tracto genital en hombres y mujeres hasta severas complicaciones como infertilidad, nacimientos prematuros, mayor riesgo de transmisión de HIV y desarrollo de cáncer cervical. A pesar de estas complicaciones y de la alta incidencia de infección, las drogas 5-nitroimidazol, de las cuales el metronidazol (MTZ) es el más prescrito, son las únicas aprobadas para el tratamiento. La aparición de cepas resistentes al tratamiento es una problemática mundial y se encuentra poco clara la causa de la misma. Algunos estudios sugieren que la resistencia parecería estar dada por la expresión o actividad diferencial de genes claves en este proceso. En este contexto, nuestra hipótesis plantea que la epigenética podría contribuir al desarrollo de la resistencia a MTZ en *T. vaginalis*. Mediante el uso de un inhibidor específico de histonas deacetilasas (TSA) observamos que el tratamiento ocasiona la sensibilización de cepas naturalmente resistentes a metronidazol. Para identificar aquellos genes que juegan un rol importante en la sensibilización, realizamos experimentos de RNA-seq de parásitos expuestos a TSA, a MTZ y a la combinación de MTZ+TSA. Mediante este análisis, identificamos 130 genes candidatos regulados epigenéticamente que podrían estar asociados al desarrollo de la resistencia a MTZ. Posteriormente, analizamos los niveles de expresión y apertura de la cromatina de estos 130 genes en una cepa

naturalmente resistente y una cepa sensible a MTZ mediante RNA-seq y ATAC-seq. Los resultados indican que varios de los genes candidatos poseen baja expresión y cromatina condensada en la cepa resistente y alta expresión génica asociada a cromatina abierta en la cepa sensible al MTZ. Nuestros datos demuestran por primera vez que la epigenética regula, al menos en parte, la resistencia desarrollada a MTZ en *T. vaginalis*.

DyT-030

Nueva plataforma electroquímica basada en un nanocompuesto de PVA / PVP / RGO para el diagnóstico serológico de toxoplasmosis

Claudio F. Jofre¹, Eduardo A. Takara², María L. Scala-Benuzzi¹, Sergio Angel³, Franco A. Bertolino¹, Sirley V. Pereira¹, [Germán A. Messina^{1,*}](#)

¹ INQUISAL, Departamento de Química, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina, ² Instituto de Física Aplicada (INFAP), Departamento de Química, Universidad Nacional de San Luis. CONICET, San Luis, Argentina, ³ Instituto Tecnológico de Chascomús (IIB-INTECH) CONICET-Universidad Nacional de General San Martín, Chascomús, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

*gemalme@gmail.com

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica originada por el parásito intracelular conocido como *Toxoplasma gondii*. Esta infección posee una fase aguda y una fase crónica. En individuos inmunocompetentes, la etapa aguda tiende a ser asintomática, lo que dificulta su diagnóstico y reviste una importancia considerable, dado que los síntomas clínicos no permiten discernir entre la toxoplasmosis y otras afecciones. En este contexto, las pruebas serológicas constituyen el método de elección para el diagnóstico de la toxoplasmosis. Sin embargo, las mismas presentan limitaciones significativas, ya que demandan personal altamente capacitado, consumen tiempo y requieren equipos especializados. En consecuencia, el desarrollo de un nuevo procedimiento de alta sensibilidad y especificidad para la detección de anticuerpos IgG específicos contra *T. gondii* adquiere un gran valor. El objetivo de este trabajo fue el desarrollo y la caracterización de

un nanocompuesto aplicado a la fabricación de inmunosensores electroquímicos para el diagnóstico serológico de toxoplasmosis. Para lo cual, el electrodo de trabajo de carbón serigrafiado (SPCE) fue modificado con el nanocompuesto sintetizado constituido por polivinil alcohol (PVA), polivinilpirrolidona (PVP) y óxido de grafeno (GO). A continuación, fue realizado la reducción electroquímicamente del nanocompuesto polimérico para obtener PVA / PVP / RGO / SPCE. Según estudios electroquímicos, la nueva plataforma aumentó la superficie electroactiva en un factor de 20,46 en comparación con el SPCE sin modificar. La cuantificación de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* mostró un límite de detección de 0.012 U mL^{-1} , y los coeficientes de variación intra e interdía fueron menores al 4.5% y 6.2%, respectivamente. Las excelentes cualidades del inmunosensor diseñado indican claramente que representa una herramienta analítica prometedora para el diagnóstico clínico de toxoplasmosis.

DyT-032

Evaluación del riesgo de reactivación de la infección por *Trypanosoma cruzi* por tratamientos inmunosupresores empleados para prevenir el rechazo de trasplante en el modelo experimental.

Maria B. Piñero¹, Matias I. Marchetto², Juan Quarroz Braghini^{3,4}, María C Cabral Lorenzo⁴, Verena B Franco Riveros⁵, Bruno Buchholz⁶, Silvia Repetto^{1,7}, Catalina D. Alba Soto^{2,3}

¹[IMPAM] Instituto De Investigaciones En Microbiología y Parasitología Medica. Facultad de Medicina. (UBA-CONICET), Capital Federal, Argentina. ²[IMPAM] Instituto De Investigaciones En Microbiología Y Parasitología Medica. Facultad de Medicina. (UBA-CONICET), Capital Federal, Argentina. ³Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología. Facultad de Medicina (UBA), Capital Federal, Argentina. ⁴Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Capital Federal, Argentina. ⁵[IBIMOL] INSTITUTO DE BIOQUIMICA Y MEDICINA MOLECULAR PROFESOR ALBERTO BOVERIS - Facultad de Medicina. (UBA-CONICET), Capital Federal, Argentina. ⁶[IBIMOL] Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular PROFESOR ALBERTO BOVERIS - Facultad de Medicina. (UBA-CONICET), Capital Federal, Argentina. ⁷División de Infectología, Hospital de Clínicas José de San Martín, Capital Federal, Argentina

El micofenolato de mofetilo (MMF) y la azatioprina (AZA) previenen el rechazo al injerto. El MMF está reemplazando a AZA dada su mayor capacidad inmunosupresora lo cual aumenta el riesgo de reactivación de infecciones. Por esto, el uso de uno u otro en pacientes con infección crónica por *T. cruzi* es tema de debate. En un modelo experimental murino evaluamos el curso de la infección crónica por *T. cruzi* luego del tratamiento con MMF y AZA para estimar el riesgo individual, y en combinación, de los fármacos inmunosupresores que son usados en esquemas de multitratamiento.

Detectamos reactivación en 75% de los ratones tratados con MMF y 37,5% de los tratados con AZA siendo la parasitemia acumulada significativamente mayor y de inicio más temprano con MMF ($p < 0,01$) respecto a los tratados con AZA. El tratamiento no se asoció a efectos adversos significativos gastrointestinales o renales. AZA disminuyó el # de glóbulo blancos circulantes y AZA y MMF disminuyeron el % de LTCD8 esplénicos. Los ttos no modificaron el % de linfocitos B esplénicos ni los niveles de IgG total. El tto con MMF disminuyó el número relativo y el tamaño de los centros germinales independientemente del estado infeccioso ($p < 0,01$); aunque produjo en ratones infectados una esplenomegalia significativamente mayor ($p < 0,01$) a expensas de una importante hematopoyesis extramedular. El tratamiento con AZA aumentó la fibrosis en los tejidos del corazón de animales infectados que no se relacionó con deterioro de función cardiaca.

La administración del inhibidor de calcineurina, Tacrolimus, no produjo reactivación ni la incrementó en su combinación con MMF o AZA. En cambio, la adición de glucocorticoides aumentó la parasitemia de ratones tratados con MMF.

En línea con observaciones en pacientes con enfermedad de Chagas crónica, el modelo experimental muestra que el fármaco de primera elección para prevenir el rechazo del trasplante, el MMF, conlleva un mayor riesgo de reactivación en comparación con AZA.

DyT-038**Nanogeles de polisacaridos como base para la optimización de la actividad de drogas tripanocidas**

Luna Magrotti Messa¹, Adriana Kolender², Martín Edreira¹, Daniel Musikant¹

¹IQUIBICEN-UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.
²CIHIDECAR, Buenos Aires, Argentina

Los fármacos aprobados para el tratamiento del Chagas, nifurtimox y benznidazol (BZ), son prácticamente insolubles y de baja permeabilidad, lo que explicaría su baja biodisponibilidad. Los nanogeles de polisacáridos como el quitosano están considerados entre los sistemas de vehículo de drogas más apropiados debido a sus características fisicoquímicas y biológicas. A fin de mejorar su biodisponibilidad nos propusimos vehiculizar BZ a través de nanogeles de quitosano (NG) combinado con ácido cítrico y tripolifosfato de sodio por el método de gelificación iónica. Las partículas obtenidas presentaron un tamaño de 226-230 nm (DLS), con potencial zeta de +32 mV, y la curva de liberación de benznidazol frente a PBS alcanzó rápidamente un máximo del 70% (RP HPLC). La actividad de NG-BZ fue analizada sobre formas de tripomastigotas libres de una cepa de *T. cruzi* resistente a BZ. En las condiciones del ensayo, NG-BZ fue capaz de reducir un 37,5% la viabilidad de los tripomastigotes respecto al control ($p < 0,01$), es decir 2,5 veces más potente que la misma concentración de BZ libre ($p < 0,05$). Adicionalmente, utilizando dos métodos diferentes, se evaluó la actividad del nanoformulado en células HeLa infectadas y observamos una disminución del 40% en el número de amastigotes/100 células respecto al control sin tratar. En conjunto estos resultados demuestran que los nanogeles de quitosano representan un sistema promisorio para el nanoencapsulado del benznidazol y podrían ser el punto de partida para la futura progresión a nanomedicinas con mejores parámetros de selectividad y biodisponibilidad.

DyT-039**Estudio de liposomas lipídicos conteniendo nuevos fármacos anti-*Trypanosoma cruzi***

Chantal Reigada¹, Fabio Digirolamo¹, Facundo Galceran¹, Melisa Sayé¹, Carolina Carrillo², Pablo Torres², Agustina Cammarata³, Romina J Glisoni³, Guillermo Labadie⁴, Mariana R Miranda¹, Claudio A Pereira¹

¹IDIM, CONICET-UBA, Buenos Aires, Argentina. ²ICT-MILSTEIN, CONICET, Buenos Aires, Argentina. ³NANOBIOTEC, CONICET-FFyB, UBA, Buenos Aires, Argentina. ⁴IQUIR-CONICET, Santa Fe, Argentina

Recientemente identificamos varios fármacos con actividad contra *Trypanosoma cruzi*, aprobados para su uso en humanos, entre ellos, el antihistamínico loratadina (LTD) y el retinoide isotretinoína (ISO), utilizado para el tratamiento del acné. Con el objetivo de desarrollar nuevas alternativas terapéuticas para mejorar el tratamiento de la enfermedad de Chagas, se prepararon liposomas de fosfatidilcolina y colesterol en etanol conteniendo ISO o LTD, recubiertos con quitosano. La caracterización fisicoquímica de las formulaciones de ISO, LTD y liposomas vacíos, usando la dispersión de luz dinámica, 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. La eficiencia de encapsulación de ambos fármacos en los liposomas, determinada mediante cromatografía líquida de alta resolución, dio cercana a 50%. En cuanto al efecto contra los tripomastigotes (estadio infectivo de mamíferos) de *T. cruzi*, los liposomas con LTD fueron significativamente más efectivos que LTD libre con IC_{50} de 3,90 μ M y 10,26 μ M, respectivamente, y que benznidazol (BNZ) libre ($IC_{50} = 4,88 \mu$ M), el fármaco que se usa actualmente para tratar la enfermedad de Chagas. Los liposomas con ISO y el fármaco libre presentaron efectos similares, con valores de IC_{50} de aproximadamente 1 μ M, pero con una actividad tripanocida mayor que BNZ. Dado que ISO presenta una alta inestabilidad en presencia de luz, aire y calor, se demostró que los liposomas mejoran la estabilidad de

ISO al preservar su efecto tripanocida después de 6 meses de almacenamiento. Todos estos resultados resaltan el potencial de las formulaciones de LTD e ISO como estrategia terapéutica para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

DyT-042

Reposicionamiento de fármacos *in silico* aplicado a la búsqueda de inhibidores de la N-miristoil transferasa de *Toxoplasma gondii*

Carolina L Bellera¹, Lucas N Alberca¹, Alan Talevi¹, María E Ruiz¹, Agustina Ganuza², Laura Vanagas², María M Corvi²

¹LIDeB | FCE | UNLP, La Plata, Argentina. ²INTECH | CONICET | UNSAM, Chascomús, Argentina

Toxoplasma gondii es uno de los patógenos oportunistas más importantes en humanos y es el agente causal de la toxoplasmosis. Actualmente no existen vacunas efectivas y los fármacos aprobados presentan resistencia, eficacia limitada y regímenes posológicos prolongados. Por tales razones, existe la necesidad de contar con nuevos fármacos contra la toxoplasmosis activa y/o crónica. La N-miristoil transferasa de *T. gondii* (TgNMT) se posiciona como un nuevo posible blanco de intervención. En este trabajo desarrollamos modelos de aprendizaje automático a fin de emplearlos en el cribado virtual para identificar nuevos inhibidores de TgNMT, se compiló una base de datos de compuestos con información experimental reportada en ensayos *in vitro* frente a TbNMT, considerando que la NMT de *Toxoplasma gondii* comparte alta homología con NMT de *Trypanosoma brucei*, realizamos un curado y categorizamos el set de datos en compuestos activos o inactivos sobre TbNMT, obteniendo un set de datos conformado por 467 compuestos (352 activos y 115 inactivos). Dicho set se particionó en 3 conjuntos diferentes (empleando rutinas *in house* en Python), a partir del set de entrenamiento se generaron 1000 modelos clasificadores lineales. Los mejores modelos fueron combinados para obtener meta-clasificadores con mayor capacidad predictiva y validados mediante cribado virtual (CV) retrospectivo

calculando diversos parámetros de enriquecimiento. El mejor meta-clasificador obtuvo un área bajo la curva ROC de 0,99 en su validación. Mediante el análisis de las superficies PPV, se eligió un valor de corte, asociado a una Se de 89,6% y una Sp de 99.2% y un valor de PPV de 0,53 para un rendimiento hipotético de activos del 1%. Finalmente realizamos el cribado prospectivo sobre diferentes bibliotecas digitales de compuestos (DrugBankv5.1.6, FoodDB, Drug Repurposing Hub) seleccionando 196 hits como potenciales inhibidores de la NMT. Los candidatos seleccionados serán evaluados en ensayos *in vitro* frente a TgNMT.

DyT-046

Efecto fotodinámico de extractos de especies del género *Trichocline* sobre promastigotes de *L. amazonensis*

Jesica Dimmer^{a,b}, Camila Barrionuevo^a, Tomas C. Tempesti,^c Matías Funes^d Walter Rivarola^a

^aCentro de Estudios e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis, FCM, UNC. INICSA-CONICET, Córdoba 5000, Argentina, ^bCentro de Investigaciones y Transferencia de Villa María (CIT-VM), UVM, Villa María, Córdoba 5900, Argentina, ^cINFIQC,- Departamento de Química Orgánica, FCQ, UNC, Ciudad Universitaria, X5000HUA. Argentina, ^dIMIBIO-CONICET, Farmacognosia, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de San Luis, 5700, San Luis, Argentina. jesica.dimmer@unc.edu.ar

La leishmaniasis cutánea (LC) es una enfermedad desatendida ocasionada por parásitos del género *Leishmania*, entre ellas, *L. amazonensis*. La terapia fotodinámica antiparasitaria podría ser empleada en esta dolencia por su efecto localizado. Involucra la acción de un fotosensibilizador, luz y oxígeno que generan especies reactivas de oxígeno y del nitrógeno capaces de generar daño en las biomoléculas y por consiguiente la muerte celular. Las especies herbáceas *Trichocline plicata* (Tp) y *Trichocline sinuata* (Ts) podrían presentar efecto fotodinámico debido a su composición de psoralenos. En este trabajo se propuso evaluar la actividad de los extractos de Tp y Ts sobre promastigotes de *L. amazonensis* empleando luz UVA (365nm).

Se incubó una suspensión de parásitos de 5×10^6 parásitos/mL con diferentes concentraciones: Ts 10 $\mu\text{g/mL}$ y Tp 5, 10 y 20 $\mu\text{g/mL}$ en oscuridad y combinadas con diferentes dosis de luz: 0,123 J/cm^2 (5 min de irradiación, 5L), 0,243 J/cm^2 (10 min, 10L) y 0,486 J/cm^2 (20 min, 20L). Se incluyó el control negativo (CN) y el control negativo irradiado (CNL) ambos con PBS. Luego del tratamiento, se incubaron las diferentes condiciones durante 72 h y se realizó el recuento con el método de exclusión azul de tripán. En un primer ensayo donde se compararon ambas especies (10 $\mu\text{g/mL}$) con una dosis de irradiación de 5L y 10L se observó que Tp logró una significativa reducción de la VC respecto al CN ($p < 0,0001$) y superior a Ts, por lo que se continuó trabajando con Tp. Se demostró que la combinación de Tp 10 $\mu\text{g/mL}$ y 5L produjo la mayor reducción de la VC en relación a su CNL ($p < 0,0001$) y a los otros tratamientos, mientras que las combinaciones de 20 $\mu\text{g/mL}$ -5L, 10 $\mu\text{g/mL}$ -5L y 5 $\mu\text{g/mL}$ -20L produjeron reducciones significativas respecto a sus CNL ($p < 0,0001$) y similares entre sí ($p > 0,05$).

Se concluye que los extractos de Tp podrían emplearse como un potencial tratamiento local para la LC debido al efecto fotodinámico que presentó en promastigotes de *L. amazonensis*.

DyT-052

En busca de nuevos inhibidores tripanocidas para la desoxihipusina sintasa de *Trypanosoma cruzi* mediante técnicas computacionales.

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

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

Actualmente existe una necesidad de buscar nuevos blancos terapéuticos y compuestos tripanocidas más efectivos y seguros para combatir la enfermedad de Chagas. En este contexto, estamos estudiando la enzima desoxihipusina sintasa de *Trypanosoma*

cruzi (TcDHS) que cataliza la primera etapa de la formación del aminoácido hipusina que se encuentra exclusivamente en el factor de traducción 5A (eIF5A). La hipusina se genera mediante la modificación post-traducciona de una lisina específica en eIF5A, activando así el factor. Tanto eIF5A como la DHS son vitales en todos los organismos eucariotas para iniciar la traducción. Aunque en humanos la DHS es producto de un único gen, generando un homotetrámero, en tripanosomátidos se reconocen dos genes para DHS, uno produce una subunidad activa catalítica (DHSc) y otro, inactivo (DHSi), formando un heterotetrámero. Se sabe que en *Trypanosoma brucei*, este proceso es esencial para la supervivencia. Dada la divergencia entre la DHS humana y la de tripanosomátidos, y su importancia, surge la hipótesis de encontrar inhibidores de la TcDHS con actividad tripanocida. Para ello, se comenzó con un rastreo virtual en las bases de datos FDA y SWEETLEAD, compuestas principalmente de fármacos aprobados para uso humano, usando AutoDock Vina, y como blanco la DHS. Dado que la estructura de TcDHS no está resuelta, se usó la de *T. brucei*, con un 64% de identidad. Se compararon las interacciones de los sustratos de la enzima (espermidina y NAD⁺) y de los compuestos de las bases de datos con la subunidad inactiva de DHS. De los 15 compuestos obtenidos, se seleccionaron 3 posibles inhibidores con energías de unión entre -6.7 y -9.9 kcal/mol, inferiores o iguales a NAD⁺ (-7.2 kcal/mol) y a espermidina (-3.7 kcal/mol). Estos compuestos se someterán a pruebas *in vitro* para los estudios de inhibición de la TcDHS y de actividad tripanocida en los distintos estadios de *T. cruzi*.

DyT-058

Desarrollo de 3 nuevos tests para el diagnóstico rápido de hemoparásitos que causan la babesiosis y anaplasmosis bovina basados en la tecnología de amplificación isotérmica mediada por bucles (LAMP)

Magali N Valenzano¹, Eliana C Guillemi¹, Valeria N Montenegro¹, Marcos Trangoni¹, Gustavo Barbon¹, Agustina E Perez¹, Patricia Zimmer², Nestor Sarmiento³, Carla Pertile³, Carolina Carrillo⁴, Marisa D Farber¹, Silvia E Wilkowsky¹

¹ABIMO INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ²EAA INTA Formosa, Formosa, Argentina. ³EAA INTA Corrientes, Mercedes, Argentina. ⁴CONICET, Buenos Aires, Argentina

Los parásitos *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, y la rickettsia *Anaplasma marginale* causan el síndrome conocido en Argentina como el Complejo Tristeza Bovina, una enfermedad anemizante que causa importantes pérdidas económicas al sector ganadero del norte de nuestro país. Actualmente el diagnóstico de casos agudos se realiza mediante microscopía o por PCR lo cual requiere de equipamiento adecuado y personal entrenado.

Por estos motivos resulta fundamental disponer de una herramienta de diagnóstico molecular sencilla, rápida, sensible, con posibilidad de ser usada al pie del animal y dirigida especialmente para el manejo de los brotes en el campo. Este desarrollo apunta a simplificar la confirmación diagnóstica y disminuir los costos de tratamientos innecesarios a los productores de las zonas afectadas.

En este trabajo desarrollamos 3 reacciones LAMP para la detección molecular de ADN de *B. bovis*, *B. bigemina* y *A. marginale* cuyo resultado positivo se evidencia a simple vista con el cambio de color de la reacción. Con este fin diseñamos primers que amplifican genes del apicoplasto de *B. bovis* y *B. bigemina* y el gen *msp1b* de *A. marginale*. En cuanto a su sensibilidad, las LAMP detectaron hasta una parasitemia de 0.01% en el caso de *B. bovis* y *B. bigemina*, y de 0.001% en el caso de *A. marginale*, las cuales están por debajo de las observadas en casos agudos. Además, todas las reacciones resultaron específicas para cada patógeno. Para la validación clínica las 3 pruebas se evaluaron en 165 muestras de los 3 hemoparásitos provenientes del NEA demostrando que cada esquema diseñado es capaz de detectar el 100% de los casos agudos evaluados.

En conclusión, desarrollamos 3 tests de diagnóstico rápido con sensibilidad suficiente para la detección de casos agudos de “tristeza”

y con la ventaja de su bajo requerimiento de equipos y su facilidad de interpretación los cuales podrán ser implementados para el diagnóstico a campo de la Tristeza bovina.

DyT-064

Programa de control externo de la calidad para el diagnóstico molecular de Chagas Vertical por amplificación isotérmica mediada por asas (LAMP).

Lady García Casares¹, Arturo Muñoz Calderón¹, Lucia Irazu², Marcelo Rodríguez³, Julio Alonso Padilla⁴, Silvia A. Longhi¹, Alejandro G. Schijman¹, ChagasLAMP Project group⁵

¹INGEBI CONICET, Buenos Aires, Argentina. ²Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina. ³ANLIS Malbrán, Buenos Aires, Argentina. ⁴ISGlobal, Barcelona, Spain. ⁵

La detección microscópica de parásitos a partir de muestras de sangre de recién nacidos de madres con enfermedad de Chagas es el estándar de oro para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi*, pero tiene baja sensibilidad y depende del operador. En los últimos años, se incrementó el uso de pruebas basadas en la amplificación de ADN como la PCR y el LAMP. Sin embargo, la detección molecular requiere personal técnico capacitado, lo que es poco frecuente en regiones endémicas. Por ello, es necesario un riguroso control, mediante un plan de evaluación externa de calidad (EQA, por sus siglas en inglés). En este proyecto se capacitó y evaluó el desempeño del personal de 5 maternidades de Bolivia, 2 de Paraguay y 2 de Argentina. Se utilizó una extracción ultrarrápida de ADN acoplada al LAMP (PURETc-LAMP, Eiken Chemical Co, Japón) con lectura directa de resultados a simple vista o mediante un visor acoplado al termobloque LF-160 (Eiken Chemical Co). Cada laboratorio recibió paneles de aptitud formados por controles negativos y sangre seronegativa enriquecida con 10 o 20 (cerca del límite de detección) y 50 parásitos/mL, pertenecientes a las unidades de tipificación discreta (UDT) I, II y VI. Los resultados revelaron que el formato de muestra influyó en el desempeño: la sangre seca en papel FTA tuvo mejor acuerdo positivo

(AP) de 88,4% y eficiencia global (EG) de 89,9% que la sangre entera (65,7% y 74,3% respectivamente). La lectura con visor facilitó la interpretación de los resultados y finalmente, con la cepa UDT I, que contiene menor número de copias del blanco molecular, se obtuvo menor AP (81,9%) y EG (88%) que con las cepas UDT II y VI, con AP y EG por encima del 90%.

Los esquemas EQA ofrecen una excelente herramienta tanto para evaluar el desempeño del laboratorio como cada uno de los operadores, lo cual es fundamental para salvaguardar la confiabilidad de los datos y de los diagnósticos.

DyT-066

Diagnóstico molecular temprano de la enfermedad de Chagas Vertical: Estudio prospectivo en Instituciones de Salud Pública de América Latina.

Lady García Casares¹, Arturo Muñoz Calderón¹, Julio Alonso Padilla², Silvia A. Longhi¹, Alejandro G. Schijman¹, ChagasLAMP Project group³

¹INGEBI CONICET, Buenos Aires, Argentina. ²ISGlobal, Barcelona, Spain. ³

El control de la transmisión materno-fetal de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas Vertical (EChV), es una prioridad de salud pública. La infección por *T. cruzi* puede identificarse al nacer y tiene alta probabilidad de curación a corto plazo si el recién nacido recibe tratamiento en los primeros meses de vida. En este estudio, realizamos una validación clínica de la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) para el diagnóstico molecular temprano de EChV en 9 centros de Salud Pública ubicados en Bolivia, Paraguay y Argentina, utilizando un método de extracción de ADN ultrarrápido acoplado al LAMP (PURE-Tc-LAMP, Eiken Chemical Co, Japón), adaptable a laboratorios de baja complejidad. En el estudio de campo prospectivo, se tamizaron 10.990 madres y 7.473 fueron reclutadas. De estas últimas, 717 resultaron con serología positiva para Chagas, de las cuales 638 hijos/as fueron incorporados a este estudio, colectando un total de 1110 muestras de sangre en

heparina y 221 en tarjetas FTA (subestudio) al nacer y a las 8 semanas de vida. Se obtuvieron 33 muestras positivas por el método del LAMP a partir de sangre en heparina, de las cuales solo se obtuvo un diagnóstico parasitológico positivo en 20 muestras. Además, se observó una alta concordancia entre la prueba LAMP y la PCR en tiempo real ($\kappa=0,84$ [0,74-0,94]) como con el LAMP a partir de sangre seca preservada en tarjetas FTA ($\kappa=0,83$ [0,37-1]).

En resumen, los resultados indicaron mayor sensibilidad del LAMP respecto al estándar de oro actual (microhematocrito), con un rendimiento similar a la PCR en tiempo real. Además, sería prometedor el uso de tarjetas FTA para la recolección de muestras en áreas remotas y su transporte a temperatura ambiente a los centros de salud. Estos hallazgos demuestran el potencial del LAMP como herramienta diagnóstica en puntos de atención primaria, que podría incorporarse al algoritmo de diagnóstico de la enfermedad de Chagas Vertical.

DyT-077

Evaluación comparativa de cuatro pruebas de diagnóstico rápido que detectan anticuerpos humanos anti-*Trypanosoma cruzi* para apoyar el diagnóstico de enfermedad de Chagas en poblaciones urbanas de Argentina

Rocio Rivero¹, Maria Soledad Santini^{1,2}, Constanza López Albizu¹, Marcelo Rodríguez¹, Adriana Calbosa¹, Daniela Oliveto¹, Mónica Esteva¹, Margarita Catalina Bisio^{1,2}, Laura C Bohorquez³

¹ANLIS Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud, Buenos Aires, Argentina. ²CONICET, Buenos Aires, Argentina. ³FIND, Geneva, Switzerland

La enfermedad de Chagas (EC), causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, es la antropozoonosis endémica más importante de Argentina. Se calcula que 2/3 partes de las personas con EC viven en zonas urbanas y que a nivel mundial sólo el 10% de las personas que tienen Chagas lo saben. 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 de calidad sólo se limite a los laboratorios de referencia. Desde 2010, la OMS ha destacado la necesidad de validar sistemas de diagnóstico que permitan la detección rápida de la infección en los centros de atención primaria. Las pruebas serológicas de diagnóstico rápido (PDR) podrían utilizarse para mejorar el manejo de los casos, ya que no requieren laboratorios especializados ni personal altamente capacitado para utilizarlas. Nos propusimos analizar el desempeño de las PDR, a fin de evaluar su utilidad en la mejora del acceso al diagnóstico de *T. cruzi*. Se estimó, en un estudio retrospectivo, la sensibilidad/especificidad de cuatro PDRs comercialmente disponibles en el país (WL Check Chagas, SD Chagas Ab Rapid, Chagas Rapid First Response y ACCU-TELL® Chagas Cassette) utilizando como estándar de referencia el algoritmo de diagnóstico actual. Se analizaron 400 muestras de suero, 200 infectados y 200 no infectados. Las estimaciones de sensibilidad oscilaron entre 92,5 y 100% con 95%[IC](87,9-98,2%); en cuanto a la especificidad, el intervalo fue del 76,0-96,0% con 95%[IC](69,5-92,3%). La mayoría de las PDRs evaluadas (3/4) mostraron rendimientos comparables a los métodos de diagnóstico actuales, mostrando una concordancia casi perfecta (κ 0,76-0,92). En la siguiente fase de nuestro trabajo, las PDRs se evaluarán, en contextos del sistema de salud, en un ensayo prospectivo multicéntrico a partir de sangre de punción digital.

DyT-083

Evaluación de ensayos comerciales de PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular de la infección vertical por *Trypanosoma cruzi*

María L. Hulaniuk¹, Laura Jurado¹, Franco Mangone¹, Paula Finamore², Noelia Bazán¹, Belén Warszatska³, Griselda Ballering³, Fernanda Lascano¹, Nicolás González³, Margarita Satostegui³, Samanta Moroni³, Guillermo Moscatelli^{1,3}, Otacilio Moreira², Jaime Altcheh^{1,3}, Juan C. Ramírez¹

¹IMIPP, CONICET-GCBA, Buenos Aires, Argentina. ²IOC/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil. ³Hospital Dr. Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina

En los últimos años se han desarrollado varios ensayos comerciales de PCR en tiempo real (qPCR) para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi*. Recientemente, el Ministerio de Salud de la Nación aprobó la incorporación de la PCR en el algoritmo diagnóstico de la transmisión vertical de la infección. En este contexto, nos propusimos evaluar dos ensayos comerciales para el diagnóstico molecular del Chagas vertical. Se analizaron un total de 129 muestras de recién nacidos, hijos de madres con diagnóstico confirmado de la enfermedad de Chagas. La extracción de ADN se realizó por el método de columnas de Roche. Se evaluaron los ensayos del laboratorio Wiener (Argentina) y del Instituto de Biología Molecular de Paraná (IBMP, Brasil), así como el método de qPCR *in-house* de nuestro laboratorio. Se determinaron los parámetros diagnósticos de los ensayos de qPCR en base a los resultados de las pruebas de referencia, microhematocrito (MH) (antes de los 10 meses de edad) y serología (a partir de los 10 meses de edad) y se obtuvieron las curvas ROC y el área bajo la curva. Además, se realizó la genotipificación de las muestras positivas para ADN de *T. cruzi*. De los 129 individuos analizados, 14 resultaron positivos y 115 negativos para la enfermedad de Chagas vertical según las pruebas de referencia. Las tres qPCRs tuvieron una mayor sensibilidad (100%) en comparación al MH (71,4%) para el diagnóstico de la infección vertical ($p < 0,05$). El ensayo de Wiener, la qPCR *in-house* y el MH mostraron una especificidad del 100%, mientras que el ensayo del IBMP tuvo un resultado falso positivo (Ct: 39,58), para una especificidad del 99.1%. La mayoría de las muestras positivas genotipificadas pertenecen a la unidad discreta de tipificación TcV. Estos resultados respaldan el uso de los ensayos de qPCR para el diagnóstico temprano de la infección vertical por *T. cruzi* y la implementación de los ensayos comerciales para el diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas.

DyT-085

La proteína TcSR62 de *Trypanosoma cruzi* es un blanco novedoso para el reposicionamiento de drogas con actividad tripanocida.

Analia G. Nittolo¹, Agustina M. Chidichimo^{2,3}, Gabriela V. Levy^{1,2,3}

¹Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de La Matanza, San Justo, Argentina. ²Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Martín, Argentina. ³Escuela de Bio y Nanotecnologías (EBYN), Universidad Nacional de San Martín., San Martín, Argentina

En nuestro laboratorio estudiamos el rol de la proteína SR62 de *T. cruzi* como posible blanco terapéutico para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. TcSR62 pertenece al grupo de proteínas SR-like y poco se sabe acerca de su función. En el marco de una colaboración con la Universidad de Nueva York se realizaron ensayos de modelado y *docking* molecular de los dominios de unión a ARN (RRM) de la proteína TcSR62, obteniéndose una serie de compuestos de reposicionamiento candidatos a inhibir su función. En parásitos del estadio tripomastigote el sorafenib tosilato presentó una IC₅₀ promedio de 1,2 µM, mientras que mediante ensayos de infectividad *in vitro*, produjo una inhibición de la infección y/o de la replicación de los amastigotes obteniéndose una IC₅₀ de 2 µM. En este trabajo nos propusimos validar el ensayo de *docking* molecular determinando el efecto tripanocida del sorafenib tosilato. Para ello, sobreexpresamos de manera condicional una versión etiquetada de la proteína TcSR62 con el epítipo 3xFLAG en epimastigotes de la cepa Dm28-C y evaluamos la IC₅₀ en parásitos inducidos, sin inducir y en la cepa *wild type*. Como resultado se observó que la IC₅₀ del sorafenib tosilato se incrementó más de 10 veces en parásitos que sobreexpresan la proteína 3xFLAG-SR62 en relación al cultivo no inducido y a la cepa *wild type*. Estos resultados muestran que el efecto tripanocida del sorafenib tosilato podría deberse a la inhibición de la proteína TcSR62 ya que su sobreexpresión produce parásitos resistentes y

sugiere que el compuesto podría estar interactuando con el primer dominio RRM. En conclusión, observamos que el sorafenib tosilato posee un potente efecto tripanocida y que la proteína TcSR62 es un blanco de drogas novedoso para la lucha contra la enfermedad de Chagas ya que no presenta ortólogos en mamíferos y posee dominios factibles de ser inhibidos por drogas.

DyT-086

Combining machine learning models and 3D conformational structure to prioritize novel leads against *Trypanosoma cruzi* from a chromane scaffold library

Mercedes M. Didier Garnham^{1,2}, Luz Sommariva^{1,2}, Emir Salas Sarduy^{1,2}, Fernán Agüero^{1,2}

¹Escuela de Bio y Nanotecnologías, Universidad de San Martín (UNSAM), San Martín, Buenos Aires, Argentina. ²Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Martín, Buenos Aires, Argentina

We have recently developed a pipeline to map conserved druggable modules between yeasts and *T. cruzi*, starting from a number of genome-wide fitness profiling assays performed on *S. cerevisiae*. From these experiments we obtained information on the cellular response of yeast mutant strains to different chemicals. Because each mutant carries a single and traceable heterozygous deletion, this strategy provides a rich source of pharmacogenomic associations between drugs and genes, which are good starting points to guide repurposing opportunities. Using a bioinformatic pipeline, we analyzed 271,995 gene-drug chemogenomic pairings and identified 196 suitable candidates for repurposing to *T. cruzi*, from which 21 compounds were tested in phenotypic screenings and 3 showed micromolar potencies. One of the active compounds (CID_18) was a chromane analog, a scaffold reported as a promising lead for anti-protozoal drugs (Jadhav et al, 2023). Starting from this compound, we generated a library of 17,946 bioactive compounds with a chromane scaffold. We prioritized candidates using two

approaches. First, we analyzed the 3D conformational structure of the active compound using vROCS and selected 500 compounds from the chromane library with the most similar structure. Second, we trained 3 machine learning classifier models using 15 physicochemical properties of compounds with reported activity (or inactivity) on *T. cruzi* and human targets to predict activity against *T. cruzi* and discard undesired interactions in humans. The best model for each organism was applied to the complete chromane library to predict their respective activity. As a result, we obtained 131 lead compounds with a chromane scaffold, shape and distribution of chemical features similar to CID_18, and with predicted activity and selectivity on *T. cruzi*. Next, we will curate and acquire candidates from this list which will be assayed in vitro, against *T. cruzi* amastigotes.

DyT-087

Evaluación de α GAL sintético como marcador de eficacia terapéutica en chagas pediátrico

Manuel Abal¹, Virginia Balouz¹, Cintia V Cruz², Eugenia M Giorgi³, Carla Marino³, Jaime Altcheh², Carlos A Buscaglia¹

¹IIBio-UNSAM (UNSAM-CONICET), Buenos Aires, Argentina. ²Servicio de Parasitología-Chagas, Hospital de Niños R. Gutierrez, Buenos Aires, Argentina. ³UBA (CIHIDECAR), Departamento de Química Orgánica, Buenos Aires, Argentina

La negativización de los test serológicos clásicos (tELISA) como criterio de eficacia terapéutica en pacientes con Enfermedad de Chagas puede demorar años, aun en casos de tratamiento exitoso, ya que utilizan mezclas antigénicas complejas. La fracción F2/3 de tripomastigotes de *T. cruzi*, cuyo epítipo mayoritario es el glicano α Gal (Galp(α 1-3)Galp(β 1-4)GlcNAc), es considerada uno de los gold standard para el serodiagnóstico y un potencial biomarcador post-terapéutico. Sin embargo, la obtención de este reactivo presenta desafíos técnicos y de estandarización que dificultan su implementación en la clínica. En este trabajo exploramos el uso de un ensayo ELISA (ELISA- α Gal) basado en una neoglicoproteína (NGP-Tri) generada por

conjugación a BSA de un trisacárido sintético (análogo antigénico de α Gal), como biomarcador de eficacia terapéutica en Chagas pediátrico. Se analizó por ELISA- α Gal una cohorte de 82 niños infectados con *T. cruzi* (509 muestras), que fueron diagnosticados y tratados con drogas tripanocidas. La cohorte fue estratificada de acuerdo a la edad al inicio del tratamiento: Grupo 1 (<5 meses); Grupo 2 (7 meses - 3 años); Grupo 3 (3-16 años). La seroprevalencia global de NGP-Tri fue de 58.5% (Grupo 1, 47.6%; Grupo 2, 68.4%; Grupo 3, 75.0%). Para el Grupo 1 (n=19), ELISA- α Gal acertó significativamente el tiempo de seronegativización con respecto a tELISA (mediana [IC95%]: 2.1 [0.7-12.3] meses y 5.4 [4.9-8] meses, respectivamente). La misma tendencia se vio en el Grupo 2 (n=19), donde la mediana de negativización fue de 7 [1.5-19] meses para ELISA- α Gal y 46 [19-83] meses para tELISA. En pacientes del Grupo 3 (n=24), la mediana de negativización con ELISA- α Gal fue de 53 [26-84] meses. Ningún paciente del Grupo 3 negativizó con el tELISA. El uso de NGP-Tri permite acortar los tiempos de seguimiento, lo que podría redundar en una menor 'pérdida' de pacientes debido a la deserción prematura del protocolo y contribuir a la validación de nuevas drogas tripanocidas.

DyT-088

Screening preliminar de heterociclos nitrogenados como inhibidores de *Leishmania (L.) amazonensis*.

Luciana Thomaz¹, Jenicer K. Yokoyama-Yasunaka¹, Mauro J. Cortez Veliz¹, Silvia E. Asis², Gisela C. Muscia²

¹University of Sao Paulo, Institute of Biomedical Sciences, Sao Paulo, Brazil. ²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

La leishmaniasis es ocasionada por más de 20 especies de parásitos protozoarios de *Leishmania*. Esta enfermedad se presenta en tres formas, visceral (LV), cutánea (LC) y mucocutánea (LM) y afecta principalmente a las poblaciones más vulnerables desde el punto de vista nutricional y también pacientes inmunocomprometidos. Un estimado de 700 000 a 1 millón de casos nuevos se presentan

anualmente. El tratamiento de la leishmaniasis es limitado, basándose principalmente en compuestos antimoniales pentavalentes, anfotericina B y miltefosina. Sin embargo, estas opciones quimioterapéuticas no son útiles, lo que no resulta adecuado para la realidad socioeconómica de las poblaciones afectadas. Por lo tanto, la identificación de nuevos compuestos es urgente para desarrollar candidatos seguros y eficaces para la leishmaniasis. Alcaloides quinolínicos presentaron una actividad prometedora contra *Leishmania donovani*, tanto en ensayos *in vitro* como en su evaluación *in vivo*. Nuestro laboratorio diseñó y sintetizó cuatro familias de compuestos tomando como base al núcleo de quinolina y otros heterociclos: derivados de pirimidin-2-ona (serie 1), híbridos de quinolin-chalconas (serie 2), 2,4-diarilquinolinas (serie 3) y derivados indólicos (serie 4). Todos los compuestos fueron evaluados *in vitro* para determinar el efecto inhibitor sobre la proliferación de *L. (L.) amazonensis*. Para su determinación se realizó el ensayo con MTT en todos los casos, los derivados fueron evaluados a una dosis única de 29,3 μ M y cada prueba se realizó por triplicado, empleando Anfotericina B como referencia. En la serie 1 ningún compuesto inhibió el crecimiento parasitario, en la serie 2 todos los términos se destacaron por su actividad inhibitoria, en la serie 3, algunos de ellos sobresalieron por su poder inhibitor y en la Serie 4, sólo dos compuestos demostraron cierta actividad. Actualmente se están determinando los valores de IC₅₀ de los compuestos más activos de cada serie.

DyT-089

Discovery of serologic markers linked to the success or failure of treatments in Chagas disease

Ramiro B Quinteros, Alejandro D Ricci, Fernán G Agüero

IIB-UNSAM, Buenos Aires, Argentina

Currently available first-line antiparasitic treatments against Chagas disease can produce adverse side effects and are not fully effective in the chronic stage of the disease. As a result, there is a sustained research effort to feed the

clinical development pipeline. However, there are known difficulties in assessing therapeutic efficacy in patients in the chronic stage: subclinical parasitemia makes circulating parasites difficult to detect either by direct observation or by molecular methods (PCR). For this reason, serological detection of *T. cruzi* is preferable. Specific antibodies against the parasite decay when the parasite is eliminated, but complete seroreversion takes years. We recently developed the Atlas of Antigens and Epitopes of Chagas Disease, which provides thousands of defined antigenic markers and information on the antibody repertoires of 71 patients from diverse human populations. Here we analyzed the dynamics of specific antibodies of patients undergoing chemotherapeutic treatments, using CHAGASTOPE-v2 high-density peptide microarrays assayed with samples from 36 patients from the Benznidazole, E1224-high-dose or placebo arms (12 patients per arm). For each patient we analyzed 3 samples, obtained at recruitment, end-of-treatment, and after a 1-year follow-up. All assays were performed in duplicate. We compared antibody-binding signals of samples from the same patient over time, for 392,299 *T. cruzi* peptides, and identified two main antibody compartments with different dynamic behavior over time. One compartment was dynamic, displaying larger signal changes, whereas the other was more stable. In concert with DNDi we will explore correlations of these serological markers with other clinical or molecular data linked to treatment failure or success. A smaller set of antigens or their epitopes will be used to design new immunoassays for continuous serological evaluation in clinical applications.

DyT-098

Trypanosoma cruzi trypomastigotes and amastigotes *in vitro* viability after incubation with benznidazole-loaded polymeric nanoparticles.

Giuliana Muraca¹, María B Piñero², Matías Marchetto², Cecilia Chain³, Sebastián Cisneros³, Catalina Alba Soto², Germán Islan⁴, Alan Talevi¹

¹LIDeB, La Plata, Argentina. ²IMPaM, Buenos Aires, Argentina. ³INIFTA, La Plata, Argentina. ⁴CINDEFI, La Plata, Argentina

Trypanosoma cruzi is the causative agent of Chagas disease, an endemic infection that affects approximately 6-7 million people worldwide. The only two available drugs, nifurtimox and benznidazole (BNZ), are ineffective against the chronic stage of the disease. Intracellular persistent dormant parasites are hypothesized as a factor of resistance to pharmacotherapy. Therefore, pharmaceutical formulations capable of enhancing distribution may result in improved therapeutic. The production of nano-carriers is a novel strategy that aims to modify pharmacokinetics parameters. Our goal was to develop polymeric carriers (EU) loaded with BNZ to evaluate their effect on trypomastigotes and amastigotes. EU were prepared by the emulsification by ultrasonication technique. Formulations were characterized in terms of entrapment efficiency (%EE), size, TEM, polydispersity index, Z-potential, and in vitro antitrypanosomal activity. Formulations showed high %EE (74%), spherical shape, an average size of 157 nm, low polydispersity (PDI 0.026) and Z-pot around -33 mV. In vitro antitrypanosomal assays were performed against the K98 *T. cruzi* clone. Trypomastigotes (1x10⁵ per well) were cocultured with different dilutions of BNZ and EU-BNZ in RPMI medium in a 96 well-plate at 37 °C in 5% CO₂ for 24 h, then live parasites were counted in a Neubauer chamber to determine the parasite viability. For the evaluation against amastigotes, Vero cells were previously infected with trypomastigotes at MOI 1:1 then seeded in RPMI adding at least 2x10⁴ cells per well. Freshly dilutions of BNZ and EU-BNZ were added. After 72 h, the cells were harvested and processed for flow cytometry analysis. Evaluation of EU against trypomastigotes and amastigotes showed both a similar effect as using free drug. In conclusion, EU-BNZ with suitable size and shape were developed, and antitrypanosomal activity resulted in a similar effect of free and nanoparticulated drug on trypomastigotes and amastigotes.

DyT-099

Desarrollo de un test rápido eficaz para el diagnóstico temprano del Chagas vertical mediante la detección de anticuerpos IgM específicos contra la quimera CP4.

Luz María Peverengo¹, Belén Arduso¹, Leandro Peretti^{2,3}, Laura Jurado⁴, Belén Warszaska⁴, Jaime Altcheh⁴, Emanuel Campos⁵, Paola Zago^{5,6}, Claudio Berli², Iván Marcipar¹, Nazarena Pujato¹

¹LTI-FBCB- CONICET, Santa Fe, Argentina. ²INTEC-UNL- CONICET, Santa Fe, Argentina. ³FCM-UNL, Santa Fe, Argentina. ⁴Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Instituto multidisciplinario de Investigación en Patologías Pediátricas (IMIPP) CONICET, Buenos Aires, Argentina. ⁵Hospital Público Materno infantil de Salta, Salta, Argentina. ⁶IPE-UNSa-CONICET, Salta, Argentina

La transmisión materno-infantil es la principal vía de contagio de la enfermedad de Chagas en áreas libres del vector. La infección vertical por *Trypanosoma cruzi* (CHv) puede tratarse eficazmente con medicamentos parasiticidas en etapas tempranas de la infancia. Por esto, se busca diagnosticarla cerca del nacimiento para prevenir la pérdida de pacientes durante los seguimientos y aprovechar el potencial de los fármacos.

Previamente, obtuvimos una proteína quimérica de *T. cruzi*, a la que denominamos CP4, con la cual desarrollamos un ELISA de captura de anticuerpos (Acs) IgM que mostró un alto rendimiento para el diagnóstico temprano del CHv. En el presente trabajo, trasladamos esta estrategia a una inmunocromatografía de flujo lateral (IFL), con el fin de obtener una alternativa simple y rápida para el diagnóstico de la enfermedad. El test, al que nombramos CP4-IFL, consiste en una detección tipo sándwich, que utiliza la quimera CP4 conjugada a partículas de oro coloidal para la marcación de Acs anti-CP4 presentes en la muestra y Acs anti-IgM humana inmovilizados en la zona de test (ZT) para la retención y detección específica de las IgM. Evaluamos el desempeño de CP4-IFL empleando sueros de bebés, con menos de 60 días de nacidos, con diagnóstico positivo (n= 9) o negativo (n= 12) para CHv, según el algoritmo diagnóstico actual. La determinación consistió en dispensar 5 µl de muestra en la tira reactiva,

interpretando el resultado luego de 15 min a partir de la observación de color en la ZT. El test tuvo una sensibilidad del 100% (IC95%: 94,44-100) y una especificidad del 100% (IC95%: 95,83-100), demostrando un alto rendimiento para el diagnóstico del CHv. Los resultados concordaron con nuestro ELISA de captura de IgM previamente desarrollado.

CP4-IFL podría implementarse en el sistema de salud como una herramienta simple y confiable, asegurando accesibilidad al diagnóstico del CHv y precocidad en el resultado.

DyT-102

Estudios preliminares de complejos de Nifurtimox-Ciclodextrina sobre el *Trypanosoma cruzi* *in-vitro* e *in vivo*.

Daniela Madanes¹, Giselle R. Bedogni^{2,3}, Noelia Lezcano¹, Octavio Fusco¹, Laura Tasso¹, Gabriela A García^{1,4}, Claudio Salomón^{2,3}, Laura E Fichera^{1,4}

¹Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben, CABA, Argentina. ²Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. ³CONICET, Rosario, Argentina. ⁴CONICET, CABA, Argentina

Las ciclodextrinas (CD) son moléculas cíclicas naturales o modificadas sintéticamente, con una superficie con características hidrofílicas, permitiendo aumentar la velocidad de disolución con menor porcentaje de fármaco. Los complejos de inclusión nifurtimox con β -ciclodextrinas (NFX- β CD), y nifurtimox con Sulfobutil Eter β -ciclodextrinas (NFX-SBE) fueron preparados en el laboratorio del Dr Salomon en una relación molar 1:1 mediante co-evaporación. Previamente observamos que los complejos NFX-CD en células Vero no fueron tóxicos, ni tuvieron efecto hemolítico en sangre humana. En esta etapa estudiamos el efecto de las NFX-CD sobre tripomastigotes en cultivo y en un modelo agudo murino de infección por *T. cruzi* Nicaragua (TcN). Con una concentración de 5 μ M de NFX se logró un 75,6% de mortalidad de los tripos en cultivo luego de 24 horas, mientras que con SBE se alcanzó un 97,7% y con β CD un 97,1%. Ratones C3H/HeN fueron infectados intraperitonealmente con 1000

tripomastigotes de TcN, tratados con 30 dosis diarias de 50mg/kg/d de NFX como droga pura, o acompañado con CD, NFX- β CD y con NFX-SBE. La efectividad del tratamiento se determinó observando diariamente el estado general de los animales, la sobrevida, y los títulos de anticuerpos específicos anti *T. cruzi* por ELISA. Al igual que con NFX, todos los ratones tratados con NFX-SBE sobrevivieron. Además, mostraron una significativa reducción de los niveles de IgG en el suero, comparado con los controles y en mayor grado que los tratados con NFX. Con NFX- β CD sobrevivieron el 50% y no redujeron los anticuerpos específicos contra *T. cruzi*. Estos resultados preliminares muestran que el tratamiento con NFX-SBE controló la infección letal aguda por TcN, evidenciado por la sobrevida y la disminución de los anticuerpos específicos para *T. cruzi*, justificando continuar el estudio aplicando menores dosis.

DyT-111

Pruebas de diagnóstico para la infección de Chagas crónica: una revisión sistemática y meta-análisis

Margarita MC Bisio^{1,2}, Rocio Rivero², Constanza Lopez-Albizu², Victoria Andrade², Indira D'Amico², María Alejandra Vera Blacarcel², Adriana Calbosa², Juan Ignacio Irassar³, María Soledad Santini^{2,1}

¹CONICET, Buenos Aires, Argentina. ²INP ANLIS Malbrán, Buenos Aires, Argentina. ³Ministerio de Salud, PBA, La Plata, Argentina

Las revisiones sistemáticas y meta-análisis (RS/MA) contribuyen a evaluar el desempeño de las pruebas diagnósticas resumiendo la evidencia disponible. Se han desarrollado más de 110 pruebas comerciales de diagnóstico para detección de la infección por *Trypanosoma cruzi*. El objetivo de esta RS/MA es determinar la agudeza diagnóstica de las pruebas para infección crónica usando dos o más pruebas serológicas basadas en distintos principios y detectando diferentes antígenos como prueba de referencia.

Se realizó la búsqueda bibliográfica en PubMed, Lilacs y Scielo. La estrategia de búsqueda y criterios para la selección de artículos fueron registrados en la base de datos

PROSPERO (CRD42023396531). De los artículos seleccionados se extrajeron el número de verdaderos negativos, falsos negativos, verdaderos positivos, falsos positivos, la Sensibilidad y la Especificidad. El meta-análisis se realizó en R, versión 4.2.1 sobre aquellas técnicas que habían sido evaluadas en al menos 4 estudios diferentes estimando el área bajo la curva SROC (AUSROC) y el AUSROC parcial (pAUSROC).

A partir de la estrategia de búsqueda se identificaron 3639 artículos. De los 35 trabajos incluidos, 15 estudios evaluaron 67 pruebas de tipo enzimoimmunoensayo (ELISA), 12 evaluaron 26 pruebas de diagnóstico rápido (PDR), 4 evaluaron 19 pruebas de tipo hemaglutinación indirecta (HAI) y 12 estudios evaluaron otras pruebas de diagnóstico. Las técnicas ELISA, PDR y HAI mostraron una precisión con un AUSROC de 0,98 y un pAUSROC de 0,98; 0,83 y 0,95, respectivamente. No se observó heterogeneidad en el análisis según los estudios fueran realizados en regiones endémicas o no endémicas.

Esta RS sugiere que es escasa la evaluación del rendimiento de las pruebas de diagnóstico para la infección por *T. cruzi*, sin embargo el MA realizado puede contribuir a una mejor comprensión del desempeño de las mismas. En una próxima etapa se espera evaluar el riesgo de sesgo empleando la herramienta Quadas-2.

DyT-113

PCR en tiempo real para el diagnóstico de toxoplasmosis en pacientes inmunosuprimidos: un estudio de validación y utilidad clínica

María Alejandra Vera Balcarcel¹, Indira D'Amico¹, Silvia Repetto^{2,3}, Valentina Martin^{4,5}, Marikena Risso⁶, Paula Ruybal⁶, Margarita MC Bisio^{1,5}

¹INP, ANLIS Malbrán, Buenos Aires, Argentina. ²LPCM IMPAM, UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. ³Htal de Clínicas, UBA, Buenos Aires, Argentina. ⁴ITECA, ECyT-UNSAM, San Martín, Argentina. ⁵CONICET, Buenos Aires, Argentina. ⁶LIBEI, IMTIB, HIBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina

Introducción: La toxoplasmosis (TX) suele ser asintomática en individuos inmunocompetentes; sin embargo, adquiere una importancia significativa en la población inmunosuprimida (IS), siendo *Toxoplasma gondii* el principal agente etiológico de lesiones cerebrales en pacientes con VIH. Con el objetivo de permitir la detección del parásito en estas poblaciones, se propone la validación de métodos directos, como la PCR en tiempo real (PCRq) que cuenta con alta sensibilidad y especificidad.

Objetivo: Verificar un ensayo de PCRq para detección de *T. gondii* en muestras clínicas y evaluar su utilidad en el contexto del diagnóstico de TX.

Materiales y métodos: PCRq: Extracción de ADN utilizando un kit comercial (QIAamp mini kit, QIAGEN®) y amplificación en tiempo real con sondas Taqman dirigida a secuencias previamente descritas del gen B1 y la réplica de 529 pb de *T. gondii*, en termociclador CFX96 (BioRad). Se verificó el rendimiento del ensayo utilizando diluciones seriadas de parásitos de cultivo y análisis POD/LOD. Muestras clínicas: LCR, sangre y/o biopsia de 43 pacientes IS con lesiones ocupante de espacio.

Resultados: Para la PCRq dirigida al gen B1 se obtuvo un Límite de Detección (LOD) de 500 fg de ADN/ μ L (IC₉₅=0,388-0,883), un Rango Reportable = 10-10000 eq de parásito/mL y una Eficiencia = 91,2% y R²=0,996. Respecto a la réplica de 529 pb, se observó LOD de 100 fg de ADN/ μ L. Se detectó el parásito por PCRq en 10/33 de muestras de LCR, no se encontraron muestras positivas de biopsias o sangre. En 5/10 pacientes IS con PCRq positiva se detectaron Ac IgG anti-*T. gondii*.

Conclusiones: La PCRq mostró alta sensibilidad y especificidad analítica, similares a las reportadas en la bibliografía para ensayos dirigidos al gen B1 y a la réplica de 529pb. La PCRq fue útil para detectar *T. gondii* en muestras clínicas de LCR de pacientes IS con sospecha de reactivación. La corta duración de la parasitemia en la TX podría explicar la ausencia de detección en muestras de sangre.

DyT-119

La ciclofilina TcCyP19 secretada por *Trypanosoma cruzi* como un marcador temprano de eficacia del tratamiento tripanocida.

Mariana Pinillo¹, Alina Perrone¹, Marcela Rial¹, Marisa Fernández¹, Natalia Mildubegger¹, Carolina González¹, Patricia Bustos^{1,2}, Laura Fichera^{1,2}, Susana Laucella^{1,2}, María Cecilia Albareda¹, Jacqueline Bua^{1,2}

¹INP, Bs As, Argentina. ²CONICET, Bs As, Argentina

Las ciclofilinas (CyPs) son una familia de enzimas involucradas en el plegamiento de proteínas. La ciclofilina citosólica de 19 kDa, TcCyP19, es secretada en distintos estadios parasitarios de *Trypanosoma cruzi*, clon CL Brener. Esta proteína fue reconocida por sueros de ratones y pacientes infectados con *T. cruzi*. Los niveles de anticuerpos específicos contra TcCyP19 en ratones y sujetos infectados con *T. cruzi* antes y después del tratamiento farmacológico se midieron mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Los ratones en fase aguda y crónica de la infección, con tratamientos tripanocidas exitosos, mostraron niveles de anticuerpos anti-TcCyP19 significativamente más bajos que los ratones no tratados. En niños y adultos crónicamente infectados con *T. cruzi*, se observó una disminución significativa en los niveles de anti-TcCyP19 después de 12 meses de tratamiento etiológico. Esta disminución se mantuvo en los pacientes crónicos adultos con un seguimiento de hasta 30 a 38 meses después del tratamiento. Estos resultados alientan profundizar estudios con la TcCyP19 como biomarcador temprano de la eficacia del tratamiento tripanocida, en un número ampliado de muestras.

DyT-121

Evaluación in vitro e in vivo de análogos de Suramina con potencial para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas

Gisela C Muscia¹, Leandro D Sasiambarrena², Ana María Bruno¹, Fernanda M Frank³

¹Depto Cs Químicas, FFyB, UBA, Caba, Argentina. ²Depto de Qca, FCE, UNLP, La Plata, Argentina. ³IMPAM (UBA-CONICET), Caba, Argentina

Existen en la bibliografía sustancias derivadas de amidas, poliamidas y poliaminas que actúan como inhibidores de la tripanotona reductasa (TryR), enzima exclusiva de los tripanosomátidos, siendo un ejemplo paradigmático la Suramina, una diamida simétrica. Suramina, se encuentra aprobada para el tratamiento de la infección por *Trypanosoma brucei*. La Suramina no responde a los requerimientos básicos de una droga para administración oral y así como otras poliamidas, presentan síntesis orgánicas de múltiples pasos, implicando procedimientos costosos de producción. En este trabajo, empleando un modelo computacional de inhibición de la TryR obtuvimos estructuras derivadas de amidas y diamidas tanto alifáticas como aromáticas. Todos los compuestos diseñados y sintetizados poseen adecuadas propiedades farmacológicas (*drug-like*).

Analizamos la actividad antiparasitaria sobre epimastigotes de *T. cruzi* de los 28 compuestos, obtenidos así como la citotoxicidad sobre células VERO. Cuatro de ellos presentaron una excelente actividad, con valores de IC₅₀ entre 5.8 y 14.3 μM, con un IS > 10. Estos 4 compuestos mostraron ser activos sobre amastigotes intracelulares, con valores de IC₅₀ entre 96.9 y 156 μM.

Ensayamos en el modelo murino de infección aguda por *T. cruzi* los dos compuestos con mejores Índices de Selectividad. El pico de parasitemia se registró el día 23 post infección, encontrado los animales tratados una reducción del 88.3 y 79.2% de parásitos circulantes respecto al control que recibiera sólo el vehículo. Considerando el Área Bajo la Curva durante los 35 días con parasitemias detectables, se obtuvieron reducciones de 72.2 y 47.0%.

La actividad antiprotozoaria de esta serie de compuestos representa un interesante punto de partida para un programa de química medicinal que apunta al desarrollo de nuevas quimioterapias para la enfermedad de Chagas.

EyV-Epidemiología y vectores

EyV-053

Relación Parásito - Vector: ¿Afecta la Infección por *Trypanosoma cruzi* la eficiencia reproductiva en *Triatoma infestans*?"

Patricia A. Lobbia^{1,2}, Claudia Rodríguez³, Mariana Manteca Acosta⁴

¹ UnOVE- CeNDIE - ANLIS Malbrán – MinSal, ² CONICET, ³ FCEfyN/IIByT- UNC/CONICET, Córdoba, Argentina, ⁴ CeNDIE - ANLIS Malbrán – MinSal- e-mail: patalobbia@gmail.com

La relación parásito/hospedador puede dar lugar a una serie de alteraciones en el hospedador, que afectan la reproducción de este. Muchos estudios han abordado la interacción entre *Trypanosoma cruzi*-*Triatoma infestans* sin embargo ninguno evaluó los efectos en la reproducción. El objetivo de este trabajo fue establecer el efecto de la infección con *T. cruzi* sobre la eficiencia reproductiva de *T. infestans*. Se trabajó con 4 grupos de adultos: ambos géneros no infectados (NN), ambos infectados (II), ♀ no infectado x ♂ infectado (NI), ♀ infectada x ♂ no infectado (IN). La infección se realizó en el tercer, cuarto y quinto estadio ninfal. Se registraron variables de eficiencia reproductiva. No se observó diferencia significativa en el estado nutricional de hembras ni de machos infectados y no infectados. El 91% de las parejas copularon. La primera semana las parejas NI, IN y II presentaron significativamente mayor número de cópulas que las NN. La proporción de hembras que ovipusieron mostró interacción entre el estado de infección de hembras y de machos (F=29,63; df =1,87; P<0,0001). La mayor proporción de hembras que ovipusieron fueron las de parejas NI y IN, seguidas por las II y las NN. El comienzo de la oviposición en hembras no infectadas ocurrió 2,8 veces más tarde que el resto. La fecundidad específica por edad de las hembras no infectadas fue de (3,47±0,58), valor significativamente menor que el resto (F=7,43; df = 1,63; P <0,0083). La cantidad de huevos totales fue significativamente mayor en las parejas NI

(20,29±2,62); IN (17,33±3,79) y II (18,48±2,05) que las NN (10,22±1,47). La longevidad fue significativamente mayor en las parejas NN (10,41±1,23) semanas que el resto. Los resultados obtenidos muestran que la infección con *T. cruzi* afectaría la eficiencia del vector aumentando el fitness reproductivo. Podríamos concluir que la infección generaría una compensación reproductiva que aumentaría el riesgo y la posibilidad de colonización de *T. infestans*.

EyV-079

Prevalencia y distribución geográfica de las geohelmintiasis en Argentina: revisión sistemática y metaanálisis

Andrea Servián¹, Luciana Soprano¹, Ludmila López Arias², Patricia Bustos¹, Gabriela A García¹, Soledad Santini¹

¹INP "Dr. Mario Fatalla Chaben", CABA, Argentina. ²Universidad Nacional de Hurlingham, Hurlingham, Argentina

Las geohelmintiasis son infecciones parasitarias incluidas entre las enfermedades tropicales desatendidas más importantes en términos de morbilidad. Son causadas por *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis* y los Ancilostomídeos (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*). La transmisión ocurre por la contaminación del agua, alimentos y ambiente con huevos y larvas de estos parásitos. Las migraciones desde áreas endémicas también son factores importantes a considerar. En este trabajo, se analizó la prevalencia y distribución de las geohelmintiasis en Argentina mediante una revisión sistemática de estudios poblacionales publicados entre 2000-2023 en repositorios de artículos científicos, seguida de un metaanálisis. De 350 publicaciones identificadas, solo 29 cumplieron los criterios de búsqueda. Los estudios abarcaron 13 provincias, con prevalencias acumuladas que oscilaron entre 0,3% y 73,8%. Los análisis regionales y provinciales mostraron alta heterogeneidad ($I^2 > 75\%$; $p < 0.05$). Las prevalencias ponderadas estimadas para los geohelminthos fueron: Ancilostomídeos 20% [10-33%], *A. lumbricoides* 7% [4-12%], *T.*

trichiura 3% [1-5%], *S. stercoralis* 9% [5-14%]. En Misiones y Salta se registraron las 5 especies de geohelminths y presentaron las prevalencias más elevadas. La mayoría de los diagnósticos se basaron en microscopía y solo en el 17% de los estudios se emplearon técnicas específicas. Los resultados de la revisión indican que la presencia de geohelmintiasis en Argentina exhibe una variabilidad geográfica significativa, con áreas de concentración de mayor prevalencia en el noreste y noroeste del país. Esta heterogeneidad y la ausencia de datos para varias localidades de nuestro territorio, alerta sobre la necesidad de estudios con un diseño unificado, que incluyan la sensibilización y abordaje regional, y permitan así, establecer políticas sanitarias más certeras para su prevención y tratamiento en las diferentes áreas geográficas.

EyV-093

Estudio de la función detoxificativa de las proteínas quimiosensoriales en *Rhodnius prolixus*, vector de *Trypanosoma cruzi*

Ivana S Sierra, Lucila M Traverso, Mariano Volonté, Sheila Ons

LNI (g. v. CENEXA-CONICET), CREG (FCE-UNLP), La Plata, Argentina

La enfermedad de Chagas es causada por el protozoario flagelado *Trypanosoma cruzi* y afecta a ocho millones de personas en Latinoamérica. *Triatoma infestans* es el principal vector en el cono sur, mientras que *Rhodnius prolixus* es epidemiológicamente importante en la región de los Andes y en Centroamérica. Debido a la ausencia de vacunas y tratamientos efectivos para la etapa crónica de la enfermedad, el control vectorial sigue siendo el mejor medio para reducir el riesgo de transmisión. Dado el surgimiento de poblaciones de triatominos resistentes a piretroides, estudiar los procesos biológicos vinculados a la detoxificación en estos insectos es primordial. Las proteínas quimiosensoriales (CSPs) son propias de los artrópodos y han sido tradicionalmente relacionadas con

comunicación química y percepción. Sin embargo, recientemente se ha reportado su implicancia en resistencia a piretroides en el mosquito *Anopheles gambiae*, su sobreexpresión tras la exposición de *Bombyx mori* a avermectina, *Plutella xylostella* a piretroides y *Bemisia tabaci* a neonicotinoides. Asimismo, experimentos realizados en nuestro grupo indican que existe una relación entre la expresión de estas proteínas y la exposición al insecticida piretroide deltametrina en *T. infestans*. El objetivo general del presente trabajo fue realizar un estudio de las CSP en triatominos y su implicancia en la detoxificación, utilizando como modelo *R. prolixus*. Para esto, se desarrollaron dos objetivos específicos: evaluar el patrón de expresión de las mismas luego de la intoxicación con el insecticida piretroide deltametrina y sus cambios en la expresión luego de la alimentación. Con este fin se midió la expresión de seis candidatas por qPCR (RPRC010107, RPRC013280 y RPRC000327, RPRC013221, RPRC007134, RPRC013223). Los resultados obtenidos sugieren una participación temprana de estas proteínas en la detoxificación y constituyen los primeros indicios para determinar su rol en este proceso.

EyV-094

Caracterización de la microbiota de *Triatoma infestans* y su rol en la resistencia a piretroides

Justine Frison Lovera¹, Alejandra Alvedro², Florencia Foriase³, Raquel Parada Puig³, Georgina Fronza⁴, Emiliano Bone⁵, Eva Figuerola⁶, Marta Victoria Cardinal⁷, Juan Mucci⁸, Maria de los Milagros Cámara⁸

¹Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN), Universidad de San Martín (UNSAM), San Martín, Argentina. ²Universidad 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 (IEGEBEA, Buenos Aires, Argentina. ³Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN), UNSAM, San Martín, Argentina. ⁴Laboratorio de Ecología de Enfermedades Transmitidas por Vectores-Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental-Escuela de Hábitat y Sostenibilidad-UNSAM., San Martín, Argentina. ⁵Laboratorio de plagas de bajo impacto ambiental-

Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental- Escuela de Hábitat y Sostenibilidad- UNSAM. San Martín, Argentina. ⁶Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Traslacional iB3-FCEN-UBA, Buenos Aires, Argentina. ⁷Universidad 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. ⁸Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN), UNSAM-CONICET, San Martín, Argentina

Estudios recientes han vinculado la resistencia a piretroides con la microbiota de insectos. Ante el auge de colonias resistentes a piretroides de *T. infestans*, principal vector de enfermedad de Chagas en el cono Sur, decidimos evaluar la resistencia en función a su composición de su microbiota. Realizamos ensayos de metagenómica contra la región variable V3-V4 de 16S de ninfas de IV estadio de *T. infestans* provenientes del Criadero de Vectores de Punilla, Córdoba, diferenciando entre aquellas resistentes (Salta Campo Largo, Salta Acambuco) y susceptibles (X32 Santiago del Estero) a piretroides, obteniéndose diferencias significativas en el análisis de diversidad alfa y beta. Observamos que en las muestras de Acambuco predominaban bacterias de los géneros *Arsenophonus* (58,15%) y *Enterococcus* (38,05%) mientras que en la muestra Campo Largo se encuentra en mayor porcentaje bacterias del género *Arsenophonus* (57,9%) y *Escherichia-Shigella* (20%). Por otro lado, las muestras de *T. infestans* sensibles, la microbiota estaba compuesta principalmente por *Arsenophonus* (89,7%) con menor presencia de *Micrococcus* (23,3%). A partir de estos resultados decidimos evaluar la respuesta toxicológica de ambas poblaciones empleando la metodología de papeles impregnados propuesta por Remón et al. (2017). Las ninfas de IV estadio fueron alimentadas distintos antibióticos (estreptomina, vancomicina y eritromicina) y se analizó su resistencia. La población susceptible alimentada con antibióticos mostró mayor nivel de intoxicación frente a CD50 (0.12% p/v) que aquella alimentada sin antibióticos mientras que la población resistente alimentada con antibióticos tuvo mayores niveles de intoxicación frente a dos veces la CD (CDx2, 0.72% p/v) que los

alimentados sin antibióticos. Estos resultados preliminares sugieren que las diferencias detectadas en la microbiota bacteriana de la población susceptible y resistente analizadas podrían tener efecto en la detoxificación del piretroide.

EyV-101

Explorando la genética de la resistencia: descripción de nuevos polimorfismos en el sitio de acción de insecticidas piretroides en *Triatoma infestans*

Lucila M. Traverso¹, Ivana S. Sierra¹, Ariel Aptekmann², Alejandro Nadra³, Sheila Ons¹

¹LNI (g. v. CENEXA-CONICET), CREG (FCE-UNLP), La Plata, Argentina. ²LFP (IQUIBICEN-CONICET), FCEN-UBA, Buenos Aires, Argentina. ³IB3, FCEN-UBA, Buenos Aires, Argentina

El surgimiento de resistencia a insecticidas piretroides en poblaciones de *Triatoma infestans*, principal vector de *Trypanosoma cruzi* en Argentina, es un obstáculo importante para el control químico de estos insectos. Considerando que la enfermedad de Chagas afecta a ocho millones de personas en Latinoamérica, esto representa un grave problema de salud pública. Se han reportado dos mutaciones en el sitio de acción de los insecticidas piretroides en esta especie, el canal de sodio dependiente de voltaje (TiNav), asociadas a niveles muy altos de resistencia en poblaciones de las provincias de Salta y Chaco. Sin embargo, estas mutaciones parecen no explicar completamente el fenómeno de resistencia en *T. infestans*. En este trabajo, se abordó la búsqueda de polimorfismos en el gen codificante para TiNav en una población de resistencia baja de la especie, proveniente del Departamento de Güemes (Chaco). Lecturas provenientes de un secuenciamiento de ARNm se mapearon al genoma de la especie, y se analizaron en detalle aquellas coincidentes con el gen codificante para TiNav. Los resultados revelaron la existencia de polimorfismos previamente no reportados en los sitios de unión a piretroides (Pyr1 y Pyr2), en posiciones asociadas a resistencia a insecticidas en otras especies. Se diseñaron primers para detectar

estas mutaciones a campo mediante la técnica de *High Resolution Melting*. Por otra parte, se realizó un análisis de *docking* para evaluar la interacción de TiNav con deltametrina, evaluando el impacto de las diferentes mutaciones encontradas. Este trabajo representa un avance en la comprensión de los mecanismos involucrados en la resistencia a piretroides en triatominos, relevante para el monitoreo y diseño de nuevas estrategias de control.

EyV-105

Patrones espacio-temporales de leishmaniasis tegumentaria y su correlación con la radiación eritémica incidente

Nicolás E Garimano¹, Julieta Alcain¹, Victoria Fragueiro Frias¹, Vanesa Negri¹, Patricia Bustos¹, Maria S Santini¹, Daniel Gonzalez Maglio²

¹Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chabén", CABA, Argentina. ²Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), CABA, Argentina

La leishmaniasis tegumentaria (LT) es una enfermedad zoonótica que afecta tanto la piel como eventualmente las mucosas de los individuos infectados. El origen y progresión de esta enfermedad es esencialmente inmunopatológico, ya que la gravedad de las lesiones está correlacionada con la hiperreactividad inflamatoria del sistema inmune. El componente de radiación ultravioleta (rUV) presente en la radiación solar es responsable de una inmunosupresión que impacta en la acción del sistema inmune sobre el desarrollo de diversas patologías, aunque la relación de esta con la progresión e incidencia de la LT no ha sido estudiada. El objetivo de este estudio es analizar los patrones espacio-temporales de los casos reportados de LT en Argentina y evaluar su asociación con la rUV. Para esto, utilizamos datos de radiación eritémica (rER) obtenidos a partir de bases climáticas (TEMIS) y datos epidemiológicos de pacientes (género, edad, fecha y localidad reportada de inicio de síntomas), procedentes de bases de datos del sistema de vigilancia epidemiológico nacional (SNVS-SIVILA y SISA) para el período 2013-2023. Se realizaron

análisis de hotspot por estación, emergentes y regresión múltiple para las distintas variables estudiadas. La proporción de casos sintomáticos es mayor en invierno que en cualquier otra estación ($p < 0.05$), independientemente del área geográfica estudiada. Por otra parte, la proporción relativa de casos reportados en las ecorregiones chaco húmedo-esteros (Corrientes-Chaco) aumenta en primavera-verano, contrariamente a lo observado en la ecorregión Yungas (Jujuy-Salta). La rER acumulada 45 días previos al inicio de síntomas correlaciona inversamente con la abundancia semanal de casos ($r^2 = 0,33$, $p < 0.01$), y es independiente del género y edad de los pacientes. Estos resultados sugieren que la rER acumulada podría ser un factor predictivo de la abundancia de casos, necesiéndose nuevos estudios para evaluar la relación de esta en el desarrollo de la patología.

EyV-117

***Neospora caninum* en cánidos domésticos y silvestres del sudeste de la provincia de Buenos Aires**

Agustina Soto Cabrera¹, Nathalia Paula Scioscia², Lucía Bernad³, Andrea Dellarupe⁴, Judith Victoria Bentancourt Rossoli², Gastón Andres Moré⁴, Julieta Pedrana⁵

¹IPADS-CONICET, Balcarce, Argentina. ²IIPOSAM-CONICET, Mar del Plata, Argentina. ³IPADS-INTA, Balcarce, Argentina. ⁴LAINPA-CONICET, La Plata, Argentina. ⁵UTN-CONICET, Mar del Plata, Argentina

La neosporosis es una infección parasitaria producida por *Neospora caninum*, un protozooario intracelular obligado del phylum *Apicomplexa*. Es reconocida por ser la causa principal de abortos en bovinos de diferentes sistemas productivos en el mundo y por producir cuadros neurológicos severos en perros. Tiene un ciclo heteroxeno facultativo en el que se han descrito varias especies de cánidos como hospedadores definitivos (HD): el perro doméstico (*Canis lupus familiaris*), el coyote (*C. latrans*), el dingo (*C. lupus dingo*) y el lobo (*C. lupus*). En el sudeste de Buenos Aires, el zorro gris pampeano (*Lycalopex gymnocercus*) es la especie de cánido silvestre más abundante, con una densidad promedio

de 1,5 ind/km². El presente trabajo tiene por objetivo determinar el rol del zorro gris pampeano y el perro doméstico en el ciclo de vida de *Neospora caninum* del sudeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. El muestreo se llevó a cabo en 35 establecimientos ganaderos de los partidos de Gral. Pueyrredón, Balcarce, Tandil, Mar Chiquita y Olavarría, recolectando 526 heces de zorro gris pampeano y 140 heces de perros domésticos. En el laboratorio, se realizó el análisis coprológico mediante la técnica de Sheather modificado. A su vez, se extrajeron muestras de sangre de 67 perros. Del suero obtenido se determinó la presencia de anticuerpos mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta con un punto de corte de 1:50. Los análisis coproparasitológicos resultaron negativos a *N. caninum* para ambas especies de cánidos. En cuanto al diagnóstico serológico, 35 muestras resultaron positivas indicando que el 52 % de los perros tuvieron contacto con la infección en algún momento de su vida. Estos resultados preliminares podrían indicar que el zorro gris pampeano no se comportaría como un HD de *N. caninum*, no así el caso del perro. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más estudios para dilucidar el ciclo de vida silvestre de este protozoario en la región.

PSA-Parasitología, Sociedad y Ambiente

PSA-005

Identificación parasitológica y molecular de *Cryptosporidium* spp. en rata negra (*Rattus rattus*)

Marina Runco¹, María L Gos¹, Lorena De Felice¹, Virginia Rago², Luciana Piudo³, Martín Monteverde³, Alejandro González³, María L Guichón⁴, Lucía M Campero⁵

¹LAINPA-FCV-UNLP, La Plata, Argentina. ²INIBIOMA (UNCo-CONICET) Subsección Junín de los Andes, Junín de los Andes, Argentina. ³CEAN, Junín de los Andes, Argentina. ⁴INIBIOMA (UNCo-CONICET) Subsección Junín de los Andes, Junín de los Andes, Argentina. ⁵IPADS CONICET Balcarce, Balcarce, Argentina

La rata negra (*Rattus rattus*) es un roedor exótico invasor presente en áreas naturales y urbanizadas de Argentina. Sus habilidades para trepar, saltar y nadar le permiten desarrollarse en distintos ambientes facilitando la dispersión de microorganismos, como por ejemplo *Cryptosporidium* spp. Diversos vertebrados son hospedadores de este género parasitario, incluido el ser humano para algunas especies. Mundialmente, se han reportado siete especies de *Cryptosporidium* en ratas negras, siendo *C. rat genotype III* la especie de mayor ocurrencia. En Argentina solo hay un reporte de *Cryptosporidium* spp. en ratas noruegas (*Rattus norvegicus*). El objetivo del presente trabajo fue detectar por métodos parasitológicos y moleculares la presencia de *Cryptosporidium* spp. en ratas negras establecidas en el sur de la pcia. de Neuquén. Se realizó un trapeo usando jaulas de captura viva y posterior eutanasia (Protocolo CICUAL INIBIOMA 2020-028) en cercanías de Junín de los Andes y San Martín de los Andes durante los años 2021-2022. Se tomaron muestras de materia fecal e intestino delgado de 26 ejemplares. El raspado de mucosa intestinal de cada individuo junto con la materia fecal correspondiente fueron homogeneizados y concentrados por sedimentación. Se realizaron extendidos que fueron teñidos por la técnica de Ziehl Neelsen modificada y observados en microscopio óptico. Para la confirmación molecular de formas compatibles con ooquistes de *Cryptosporidium* spp., se realizó una nested PCR utilizando los pares de primers Xiao18SFext-Xiao18SRext y Xiao18SFint-Xiao4. Solo un individuo (3,8%) resultó positivo a ambos métodos diagnósticos. La detección de *Cryptosporidium* spp. permite inferir una infección a partir del medio ambiente contaminado con ooquistes. La posible dispersión de las formas infectantes vehiculizadas por hospedadores invasores son un riesgo sanitario tanto para las personas como animales que cohabitan en el ambiente.

PSA-013

Cryptosporidiosis en caninos y felinos del gran la plata. Diagnóstico parasitológico y molecular

Paula Pérez Becchio¹, Lorena A De Felice^{1,2}, María C Venturini¹, Juan M Unzaga^{1,2}

¹LAINPA-FCV UNLP, La Plata, Argentina. ²Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias-FCV UNLP, La Plata, Argentina

La cryptosporidiosis en animales de compañía es de potencial importancia desde la perspectiva de “una salud”. La eliminación de ooquistes es más común en animales jóvenes, sin embargo, el estrés y la presencia de enfermedades concomitantes, pueden inducir la excreción en animales adultos, ocasionando infecciones crónicas y subclínicas. El objetivo del presente estudio fue realizar el diagnóstico parasitológico y molecular de *Cryptosporidium spp.* en caninos y felinos del Gran La Plata y determinar su relación con la raza, sexo, edad, signos clínicos y presencia de otros parásitos en las heces. Las muestras de materia fecal (n 70) provenientes de animales con tutor que concurren a consulta clínica, se concentraron mediante Sheather y Ritchie modificado y luego se colorearon con Ziehl-Neelsen modificado (ZNM). Se consideraron positivas, aquellas muestras con ooquistes ácido-alcohol resistentes de aproximadamente 4 a 6 µm de diámetro. El análisis estadístico se realizó mediante Chi cuadrado, con IC 95% y p<0,05 Para el diagnóstico molecular se seleccionó una muestra con alta carga de ooquistes al MO. Se realizó la extracción de ADN con ZR fecal DNA kit (Zymo, USA), con la posterior amplificación mediante la técnica de nested-PCR género-específica. El 12,8 % (9/70) de las muestras, resultaron positivas al MO. El diagnóstico molecular permitió identificar una banda de ~830 pares de bases correspondiente a segmentos del gen de la subunidad 18S del ARNr. Las variables analizadas no presentaron asociación al diagnóstico positivo (p>0,05) La presencia de *Cryptosporidium spp.* presentó una distribución homogénea entre los caninos y felinos de la región evaluada. Estudios posteriores debieran llevarse a cabo en diferentes áreas geográficas, para comprender mejor la epidemiología, así como la caracterización molecular, teniendo en cuenta el potencial zoonótico de este parásito.

PSA-019

Presencia de *Cryptosporidium spp.* en intestino de roedores sinantrópicos de áreas urbanas y periurbanas de la ciudad de La Plata

María Eugenia Sella¹, Andrea Dellarupe^{1,2}, Lorena De Felice^{1,3}, Bruno Fitte^{1,4}, María del Rosario Robles^{4,5}, María Cecilia Venturini¹, Juan Manuel Unzaga^{1,3}

¹LAINPA, FCV, UNLP, LA PLATA, Argentina. ²CONICET, La Plata, Argentina. ³CÁTEDRA DE PARASITOLOGÍA Y ENFERMEDADES PARASITARIAS, FCV, UNLP, LA PLATA, Argentina. ⁴CONICET, LA PLATA, Argentina. ⁵CEPAVE, LA PLATA, Argentina

La cryptosporidiosis es una zoonosis de amplia distribución mundial cuya principal fuente de infección es por vía oral mediante ooquistes presentes en el suelo y agua de bebida. Los roedores sinantrópicos actúan como hospedadores de esta parasitosis y dan cuenta del estado sanitario ambiental, que pueden actuar como fuente de infección a otros hospedadores, incluido el hombre. El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de ADN de *Cryptosporidium spp.* a partir de 38 muestras de intestinos de roedores sinantrópicos (13 *Ratus rattus*, 11 *Ratus norvegicus*, 14 *Mus musculus*) provenientes de áreas urbanas y periurbanas de la ciudad de La Plata, Pcia. de Bs. As., Argentina, recolectados “pos-inundación 2013” durante los periodos primavera-verano y otoño-invierno de los años 2014-2015. Las muestras de intestino fueron colectadas durante la necropsia realizada en el Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores (CEPAVE), y procesadas en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA) FCV-UNLP, donde se realizó la extracción de ADN utilizando un kit comercial (Puriprep suelo kit-INBIO HIGHWAY). Posteriormente se llevó a cabo la amplificación mediante la técnica de nested-PCR género-específica. El diagnóstico molecular permitió identificar una banda de ~830 pares de bases correspondiente a segmentos del gen de la subunidad 18S del ARNr en el 7,9% (3/38) de las muestras. Estos resultados demuestran que la criptosporidiosis se encuentra presente en roedores sinantrópicos de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de La Plata. Considerando el

potencial zoonótico de este protozoo, estudios de caracterización molecular (secuenciación) serán necesarios para evaluar su diversidad y epidemiología en el ambiente estudiado

PSA-050

Primera confirmación molecular de *Theileria equi* en dos equinos en Uruguay

Paysse Federica ; Torres Lucía; Rocco Matías ; Olhagaray Ernestina; [Armúa-Fernández María Teresa](mailto:m.teresa.armua@gmail.com)

FVet-UdelaR. Dirección: Ruta 8, Km 18, Montevideo-Uruguay. Correo electrónico: m.teresa.armua@gmail.com

Theileria equi es un protozoario perteneciente a la familia Theileriidae y junto a *Babesia caballi* son los agentes de la piroplasmosis equina. Es un parásito intracelular que afecta a équidos y es transmitido por garrapatas. Tiene amplia distribución a nivel mundial, con varios reportes en Argentina y Brasil. En Uruguay, se reportó por primera vez en 1946 bajo el nombre de *Nutallia equi*. Luego de ese primer hallazgo, solo ha habido algunos reportes de animales serológicamente positivos sin estudios de seguimiento reportados. Para este reporte, se estudiaron dos equinos que habían sido transportados a la ciudad de Montevideo desde el departamento de Rivera, zona fronteriza con Brasil. Al llegar a destino, se constató un desmejoramiento general en ambos equinos, con un pobre estado de carnes y presencia de garrapatas. Se realizó hemograma completo evidenciándose una anemia moderada. Asimismo, se enviaron muestras de sangre con anticoagulante para extracción de ADN y posterior PCR/secuenciación y una garrapata para identificación morfológica. La garrapata se identificó como *Rhipicephalus microplus*. Las muestras de ambos equinos resultaron positivas para PCR, mientras que la garrapata fue negativa. Los amplicones obtenidos fueron secuenciados y se confirmó molecularmente que los equinos estaban infectados con *Theileria equi*. De nuestro conocimiento, este la primera confirmación molecular de este parásito en Uruguay.

PSA-059

Metagenómica de bacterias presentes en muestras clínicas de pacientes con leishmaniasis cutánea de la provincia de Salta

[Paula Ragone](#)¹, M. Fernanda García Bustos¹, Nicolás Tomasini¹, Julia Pimentel¹, Andrea Mesías¹, Diego Marco¹, Paola Barroso¹, Manuela Bono², Cristina Bono³, Cecilia Parodi¹

¹Instituto de Patología Experimental (IPE), CONICET, UNSA, Salta, ²Laboratorio de Enfermedades Tropicales, Ministerio de Salud Pública de Salta, Orán, ³Hospital Juan D. Perón, Tartagal

La leishmaniasis tegumentaria (LT) es una enfermedad endémica en la provincia de Salta, Argentina. Es causada por parásitos protozoarios del género *Leishmania* y transmitidas por insectos flebótomos, del género *Lutzomyia*. Una de las presentaciones clínicas es la forma cutánea. Las úlceras se acompañan con la presencia de sobreinfecciones bacterianas que provocan dolor y exacerban la lesión. La presencia y la gravedad de estas infecciones secundarias depende de múltiples factores ambientales, piel del hospedador y microbiota transmitida por el insecto vector durante la alimentación. En el presente trabajo, se realizó un estudio exploratorio sobre la filogenia bacteriana presentes en lesiones de pacientes diagnosticados con LT, de zonas endémicas de la provincia de Salta, mediante un análisis de metagenómica. A partir de muestras de lesiones se extrajo ADN, el cual fue enviado al servicio de secuenciación de NOVOGENE, para amplificación por metagenómica de las regiones V3 y V4 del gen 16SARNr. El análisis bioinformático fue realizado utilizando el software QIIME2. Luego del filtrado de lecturas en baja frecuencias y de taxones presentes en menos de 5 muestras, se identificaron 37 OTUs. De acuerdo al porcentaje de frecuencias obtenidas de cada OTUs, se observó que la especie predominante fue *Staphylococcus aureus* (36%). Además, identificamos otras especies reportadas en heridas de piel e infecciones polimicrobianas tales como, *Anaerococcus murdochii* (17% y 7.9%); *Shigella flexneri* (5.35%); *Peptoniphilus sp.* (3.4%) y

Pseudomona sp. (0,36%). Por otra parte, identificamos en frecuencias menores al 1%, taxones de bacterias reportadas como no patógenas para humanos. Finalmente, identificamos una especie pertenece al género *Candidatus_Arthromitus*, en 5/7 muestras, en una frecuencia de 0,1%; reportado previamente en insectos. El presente trabajo permitió conocer la diversidad bacteriana en lesiones de pacientes con LT e identificar que

algunas de ellas podrían provenir del vector. Estos trabajos abren puertas para realizar estudios de asociación entre la presencia de determinadas bacterias y la severidad de las lesiones ulcerosas. *Las muestras pertenecen a un proyecto de investigación institucional aprobado por el comité de ética de la Provincia de Salta – Exp. N°321-136934/2018.



XXXIV Reunión Anual SAP 2023

Ciudad de La Plata - Argentina