



# XI Congreso SAP

*Diseño gráfico: Claudia Nose*



16 al 18 de marzo de 2022  
Mendoza - Argentina

## Sociedad Argentina de Protozoología

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



### COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente	Patricia Romano
Secretaria	Silvia Longhi
Miembros	Patricia Barrera Juan Cueto Florencia Quevedo Cynthia Rivero Nebaí Salassa Cristina Vanrell

### COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente	Julia Cricco
Miembros	Victoria Alonso Verónica Cóceres Pamela Cribb Natalia de Miguel Martin Edreira Sheila Ons Esteban Serra Valeria Tekiel Paola Zago

### COMISIÓN DIRECTIVA

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



## Avales



Universidad Nacional de Cuyo. Secretaría de Investigación, Internacionales y Posgrado.



Facultad de Ciencias Médicas

Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Médicas.

## Auspicios



Argentina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

3

---

AGENCIA  
NACIONAL DE PROMOCION  
CIENTIFICA Y TECNOLOGICA



Argentina. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.



Argentina. Mendoza. Asociación del Personal de Ciencia y Técnica.

## INDICE GENERAL

<b>Programa Científico</b>	<b>5</b>
<b>Conferencias (C)</b>	<b>14</b>
<b>Simposio 1: Avances en el tratamiento de enfermedades parasitarias (S1)</b>	<b>24</b>
<b>Simposio 2: Científicos repatriados: retomando la investigación en Argentina y la experiencia al regreso (S2)</b>	<b>26</b>
<b>Simposio 3: Epidemiología y vectores (S3)</b>	<b>29</b>
<b>Simposio 4: Actualizaciones parasitológicas en Argentina (S4)</b>	<b>32</b>
<b>Simposio 5: Biología molecular y celular (S5)</b>	<b>36</b>
<b>Simposio 6: Innovación diagnóstica en enfermedades parasitarias (S6)</b>	<b>39</b>
<b>Simposio 7: Respuesta inmune e infecciones parasitarias (S7)</b>	<b>43</b>
<b>Simposio 8: Interacción parásito-célula hospedadora (S8)</b>	<b>47</b>
<b>Simposio 9: Refinamiento en experimentación con animales y herramientas para mejorar la reproducibilidad y transferencia a estudios clínicos (S9)</b>	<b>50</b>
<b>Comunicaciones orales (COP)</b>	
<b>Del Simposio 1</b>	<b>55</b>
<b>Del Simposio 3</b>	<b>60</b>
<b>Del Simposio 4</b>	<b>62</b>
<b>Del Simposio 5</b>	<b>65</b>
<b>Del Simposio 7</b>	<b>68</b>
<b>Del Simposio 8</b>	<b>71</b>
<b>Presentaciones rápidas de pósters (COP)</b>	<b>74</b>
<b>Pósters (P)</b>	
<b>De inmunología (I)</b>	<b>85</b>
<b>De Biología parasitaria (BP)</b>	<b>102</b>
<b>De Diagnóstico y tratamiento (DT)</b>	<b>145</b>
<b>De Epidemiología y vectores (EV)</b>	<b>166</b>

## PROGRAMA CIENTIFICO

### CONFERENCIA INAUGURAL

#### Igor Almeida

Título: **Synthetic neoglycoproteins as biomarkers and vaccines for Chagas disease and leishmaniasis.**

Lugar de trabajo: Border Biomedical Research Center, Dept. of Biological Sciences, The University of Texas at El Paso

Email: icalmeida@utep.edu

### CONFERENCIA DE CLAUSURA

#### Natalia de Miguel

Título: **Control epigenético y estructura 3D de la cromatina en el parásito *Trichomonas vaginalis*.**

Lugar de trabajo: Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH)

Email: ndemiguel@intech.gov.ar

### CONFERENCIAS STANDARD

#### CONFERENCIA 1

#### Esteban Serra

Título: **C1 Proteínas con Bromodominios de *Trypanosoma cruzi*, una familia desconcertante**

Lugar de trabajo: Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario. IBR (CONICET-UNR). Fac Cs Bioq y Farm UNR

Email: eserra@fbioyf.unr.edu.ar, serra@ibr-conicet.gov.ar

#### CONFERENCIA 2

#### Alvaro Acosta Serrano

Título: **MYND the gap: Zn-finger proteins, gut microbiota and trypanosome migration in the tsetse**

Lugar de trabajo: Liverpool School of Tropical Medicine

Pembroke Place Liverpool

<https://www.lstmed.ac.uk/about/people/dr-alvaro-acosta-serrano>

Email: alvaro.acosta-serrano@lstmed.ac.uk

#### CONFERENCIA 3

#### Esther Orozco

Título: **Engranaje molecular para subsistir en un pequeño y viejo protozooario: Tráfico vesicular y fagocitosis en *Entamoeba histolytica*.**

Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular del CINVESTAV IPN



Profesora Investigadora Nacional Emérita  
Ministra de Cooperación Internacional en la Embajada de México en Francia  
Lugar de trabajo: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. México D.F.  
Email: esther@cinvestav.mx // orozco.esther@gmail.com

#### CONFERENCIA 4

##### **Tiago Donatelli Serafim**

Título: **The Impact of Blood on *Leishmania* Genetic Exchange**

Lugar de trabajo: Vector Molecular Biology Section. Laboratory of Malaria and Vector Research. National Institutes of Health (NIH/NIAID). 12735 Twinbrook Parkway, Room 2E22. Rockville MD 20852. Phone: 301-761-5070  
Email: tiago.donatelliserafim@nih.gov

#### CONFERENCIA 5

##### **Eva Acosta Rodriguez**

Título: **Immunoregulation of cellular immunity and tissue homeostasis during Chagas disease.**

Lugar de trabajo: Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología. CIBICI-CONICET.  
Email: eva.acosta@unc.edu.ar

6

---

#### CONFERENCIA 6

##### **Victoria Ingham**

Título: **Characterising insecticide resistance across multiple malaria vectors in West Africa.**

Lugar de trabajo: Centre for Infectious Diseases, Parasitology. Heidelberg University Hospital. Im Neuenheimer Feld 324 (3rd floor, r. 305 and lab 320) 69120 Heidelberg, Germany  
Email: victoria.ingham@uni-heidelberg.de

#### SIMPOSIOS

##### **SIMPOSIO I: Avances en el tratamiento de enfermedades parasitarias**

###### **1. Rosa Maldonado**

Título: **Serological and molecular assessment of potential *Trypanosoma cruzi* infections in hospitalized parturient women in the U.S-Mexico border.**

Lugar de trabajo: Department of Biological Science, Border Biomedical Research Center, The University of Texas at El Paso, El Paso-Texas, USA  
Email: ramaldonado@utep.edu

###### **2. Dolores Carrer**



**Título: Efficacy of topical Miltefosine formulations in an experimental model of cutaneous leishmaniasis.**

Lugar de trabajo: Instituto de Investigación Médica M. y M. Ferreyra-INIMEC, CONICET Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba 5000, Argentina.

Email: dcarrer@gmail.com; dolorescarrer@immf.uncor.edu

## COMUNICACIONES ORALES

### 1. Hugo R. Vaca

**Título: HDAC8 y SIRT2: Nuevas alternativas para el desarrollo inhibidores selectivos para el tratamiento de enfermedades desatendidas causadas por cestodos.**

Email: hvaca@fmed.uba.ar

### 2. Paula Cacik

**Título: Evaluación de un tratamiento mixto de vacuna terapéutica y benznidazol en dos modelos murinos de infección crónica por *Trypanosoma cruzi*.**

Email: paula.cacik@gmail.com

### 3. Margarita Bisio

**Título: Revisión sistemática y valoración del riesgo de sesgo en la evaluación de la eficacia del posaconazol en modelos animales de infección con *Trypanosoma*.**

Email: marguib@gmail.com

### 4. Mercedes Monica Didier Garnham

**Título: Computational repositioning of bioactive compounds from large chemogenomic screens: identification of conserved druggable modules between yeasts and trypanosomes.**

Email: mercedesdidiergarnham@gmail.com

### 5. Juan Carlos Ramírez

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

Email: juankrg@gmail.com

## SIMPOSIO 2: Científicos repatriados: retomando la investigación en Argentina y la experiencia del regreso

### 1. Georgina Montagna

**Título: Genética experimental de *Plasmodium* aplicada a comprender la movilidad del parásito y analizar nuevas drogas antimaláricas.**

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)-CONICET

Email: montagnageo@gmail.com

### 2. Andrés Alloatti

**Título: Presentación antigénica y *Trypanosoma cruzi*.**



Lugar de trabajo: Instituto de Inmunología clínica y experimental de Rosario (IDICER-CONICET)

Email: [alloatti@idicer-conicet.gob.ar](mailto:alloatti@idicer-conicet.gob.ar)

### 3. Diego Ruiz

Título: **Relación estructura-función en proteínas potencialmente claves para la replicación y reparación del ADN en *Toxoplasma gondii*.**

Lugar de trabajo: Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH)

Email: [dmruiz@intech.gov.ar](mailto:dmruiz@intech.gov.ar)

## SIMPOSIO 3: Epidemiología y vectores

### 1. Lilian E. Canavoso.

Título: **Reproducción en los vectores de la Enfermedad de Chagas: el complejo camino hacia la ovogénesis en un modelo de triatomino.**

Lugar de trabajo: Centro de Investigación en Bioquímica Clínica e Inmunología. CONICET-Córdoba.

Email: [lilian.canavoso@unc.edu.ar](mailto:lilian.canavoso@unc.edu.ar)

### 2. Lucila Traverso

Título: **Caracterización de familias génicas relacionadas a la respuesta a insecticidas en *Triatoma infestans*, vector de *Trypanosoma cruzi*.**

Lugar de trabajo: LNI (g.v. CENEXA-CONICET-UNLP)

Email: [ltraverso@exactas.unlp.edu.ar](mailto:ltraverso@exactas.unlp.edu.ar)

### 3. Mariana Manteca Acosta.

Título: **Red Argentina de Resistencia a Plaguicidas en uso en salud pública (RAREP): interrelación entre ciencia y gestión en Salud.**

Lugar de trabajo: Directora del Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemoepidemias. ANLIS-Malbran. Ministerio de Salud de la Nación.

Email: [mariana.manteca@gmail.com](mailto:mariana.manteca@gmail.com)

## COMUNICACIONES ORALES (3)

### 1. Jeferson Manoel Teixeira

Título: **El impacto del COVID en la lucha contra la malaria en Brasil.**

Email: [jefersonmt@icloud.com](mailto:jefersonmt@icloud.com)

### 2. Loriana Tomassini

Título: **Aislamiento de Amebas de vida libre en salas cerradas de un hospital provincial pediátrico.**

Email: [ltomassini@mdp.edu.ar](mailto:ltomassini@mdp.edu.ar)

## SIMPOSIO 4: Actualizaciones parasitológicas en Argentina (APA)

### 1. Viviana Randazzo.





**Título: Zoonosis y Econosis parasitarias en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires: Trichinellosis y amebas de vida libre.**

Lugar de trabajo: Universidad Nacional del Sur. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Cátedra de Microbiología y Parasitología. Cátedra de Parasitología Clínica. Bahía Blanca, Buenos Aires. Argentina  
Email: [vivirandazzo@yahoo.com.ar](mailto:vivirandazzo@yahoo.com.ar)

## **2. Leonora Kozubsky**

**Título: Blastocystis, un parásito ubicuo.**

Lugar de trabajo: Cátedra de Parasitología. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP.  
E-mail: [kozubsky@biol.unlp.edu.ar](mailto:kozubsky@biol.unlp.edu.ar)

## **3. M. Lorena Zonta y Graciela T. Navone**

**Título: Epidemiología de las parasitosis intestinales por protistas. Distribución actual de las infecciones humanas en Argentina, implicancias sanitarias.**

Lugar de trabajo: Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) (CONICET-UNLP)  
Emails: [lorenzonta@cepave.edu.ar](mailto:lorenzonta@cepave.edu.ar); [gnavone@cepave.edu.ar](mailto:gnavone@cepave.edu.ar)

## **COMUNICACIONES ORALES**

### **1. Gisela Neira**

**Título: Asociación entre *Fasciola hepatica* y parásitos intestinales en bovinos de la provincia de Mendoza.**

Email: [gneira@profesores.umaza.edu.ar](mailto:gneira@profesores.umaza.edu.ar)

9

### **2. Patrick Sebastian**

**Título: Posición filogenética de *Theileria cervi* detectada en *Blastocerus dichotomus* (Artiodactyla: Cervidae) de Argentina.**

Email: [sebastian.patrick@inta.gob.ar](mailto:sebastian.patrick@inta.gob.ar)

### **3. Veronica Coceres**

**Título: Análisis detallado de los procesos de endoreplicación y fisión múltiple en el parásito *Tritrichomonas foetus*.**

Email: [coceres@intech.gov.ar](mailto:coceres@intech.gov.ar)

## **SIMPOSIO 5: Biología molecular y celular**

### **1. Paula Iribarren**

**Título: SUMOilación en tripanosomátidos.**

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)-CONICET  
Email: [piribarren@iib.unsam.edu.ar](mailto:piribarren@iib.unsam.edu.ar)

### **2. Esteban Erben**

**Título: Los transcritos del principal antígeno de superficie en *Trypanosoma brucei* son regulados por una proteína de unión a ARN no convencional.**

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)-CONICET

Email: eerben@iib.unsam.edu.ar

### **3. Fernando Rivero**

**Título: *Tritrichomonas foetus*: caracterización biológica y molecular.**

Lugar de trabajo: Laboratorio de Biología Molecular, Inmunología y Microbiología (LaBIM) Instituto Multidisciplinario de Salud, Tecnología y Desarrollo (IMSaTeD), CONICET- UNSE, Santiago del Estero, Argentina.

Email: fdrparasito@gmail.com

## **COMUNICACIONES ORALES**

### **1. Florencia Díaz-Viraqué**

**Título: Heterogeneidad transcripcional y en la organización de la cromatina en los compartimentos genómicos de parásitos protozoarios.**

Email: fdiazviraque@gmail.com

### **2. Juliana Musso**

**Título: Los exosomas producidos por tres cepas del parásito *Giardia lamblia* presentan ARN pequeños.**

Email: jmusso@immf.uncor.edu

10

---

### **3. Karina Belén Sabalette**

**Título: Knockdown of the RNA-binding protein TcUBP1 in epimastigote cells reveals its essential role in trypanosome life cycle progression.**

Email: ksabalette@iib.unsam.edu.ar

## **SIMPOSIO 6: Innovación diagnóstica en enfermedades parasitarias**

### **1. Carolina Carrillo**

**Título: Test molecular para Chagas neonatal: desafíos del diseño en función de los escenarios clínicos y productivos posibles.**

Lugar de trabajo: ICT Milstein, CONICET – Fundación Cassará, Buenos Aires, Argentina

Email: ccarrillo@centromilstein.org.ar

### **2. Iván Bontempi**

**Título: *Trypanosoma vivax*, el nuevo desafío en el diagnóstico veterinario.**

Lugar de trabajo: Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas - Universidad Nacional del Litoral

Email: iabontempi@gmail.com

### **3. Carlos Buscaglia**

**Título: TSSA: from yet another Trypanosoma cruzi surface antigen to the most appealing candidate for the development of parasite serotyping assays.**

Lugar de trabajo: Laboratorio de Biología Molecular de Protozoarios, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)-CONICET, Buenos Aires, Argentina  
Email: cbuscaglia@iib.unsam.edu.ar

#### **4. Silvia Repeto**

**Título: Estrategias para el manejo de la estrongiloidosis: Desde el paciente al laboratorio.**

Lugar de trabajo: Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPam), UBA CONICET, Facultad de Medicina- CABA  
Email: silvia\_repetto@yahoo.com.ar

### **SIMPOSIO 7: Respuesta inmune e infecciones parasitarias**

#### **1. Federico Penas**

**Título: Estudio de fenofibrato como modulador de la respuesta proinflamatoria y profibrótica en fibroblastos, miocardiocitos y monocitos en la infección con *T. cruzi*.**

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA (INBIRS) CONICET. Facultad de Medicina - Universidad de Buenos Aires  
Email: federicopenas@hotmail.com

#### **2. Marina Clemente**

**Título: HSP90 de plantas: inmunomoduladores y adyuvantes en el diseño de vacunas contra coccidios.**

Lugar de trabajo: Instituto Tecnológico de Chascomús INTECH  
Email: mclemente@intech.gov.ar

#### **3. Gustavo Mourglia Ettlín**

**Título: Relevancia de los receptores scavenger CD5 y CD6 en la hidatidosis experimental murina.**

Lugar de trabajo: Área Inmunología, DEP BIO/IQB, Facultad de Química/Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay  
Email: gmourglia@higiene.edu.uy

### **COMUNICACIONES ORALES**

#### **1. Facundo Ariel Agüero**

**Título: Predicción de epítopes de dos isoenzimas de Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa de *Echinococcus granulosus* reconocidas por anticuerpos de pacientes con equinocosis quística.**

Email: facundo.aguero@uai.edu.ar

#### **2. Cintia Kaufman**



Título: ***Trypanosoma cruzi* inhibe el crecimiento tumoral en ratones C57BL/6 desafiados con la línea celular B16-F10.**

Email: kaufman@idicer-conicet.gob.ar

### 3. Camila Bulfoni Balbi

Título: **Vacuna profiláctica basada en el fragmento NT de la transialidasa induce inmunidad protectora tras el desafío oral con *T. cruzi* y reduce el impacto a nivel del miocardio durante la fase crónica.**

Email: bulfonibalbi@idicer-conicet.gob.ar

## SIMPOSIO 8: Interacción parásito - célula hospedadora

### 1. Jorge Gonzalez

Título: **La virulencia de *Trypanosoma cruzi* depende de la expresión de factores de virulencia y la regulación positiva de vías metabólicas y biosintéticas.**

Lugar de trabajo: Molecular Parasitology Unit. Medical Technology Department, University of Antofagasta, Antofagasta, Chile.

Email: jorge.gonzalez@uantof.cl

### 2. Silvina Wilkowsky

Título: **Invasión y retirada: caracterización de nuevas proteínas que utiliza *Babesia* en su batalla contra el huésped.**

Lugar de trabajo: Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA-CONICET

Email: wilkowsky.silvina@inta.gob.ar

### 3. Juan Mucci

Título: **Distribución de proteínas de membrana ancladas por GPI en *Trypanosoma cruzi*.**

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)-CONICET

Email: juan.s.mucci@gmail.com

## COMUNICACIONES ORALES

### 1. Cynthia Vanesa Rivero

Título: **The *Trypanosoma cruzi* autophagy pathway is a novel target to inhibit parasite replication and host cell infection.**

Email: rocola\_cynthia@hotmail.com

### 2. Daniel Musikant

Título: **Rol del AMPc en la modulación de marcadores inflamatorios en la infección por *Trypanosoma cruzi* in vitro.**

Email: musi90@gmail.com

### 3. María Belén Novoa



Título: **Comparación de pruebas serológicas para la detección de anticuerpos anti-*Neospora caninum* en ciervos colorados (*Cervus elaphus*).**

Email: [novoa.maria@inta.gob.ar](mailto:novoa.maria@inta.gob.ar)

**SIMPOSIO 9: Refinamiento en experimentación con animales y herramientas para mejorar la reproducibilidad y transferencia a estudios clínicos (AACYTAL)**

**1. Paula Ginevro**

Título: **Modelos animales en el estudio de Leishmaniasis cutánea y sus parámetros para el punto final humanitario.**

Lugar de trabajo: Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU CCT-CONICET Mendoza)

Email: [pginevro@mendoza-conicet.gob.ar](mailto:pginevro@mendoza-conicet.gob.ar)

**2. Claudia Vassena**

Título: **Método artificial de alimentación de vinchucas.**

Lugar de Trabajo: Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas. CIPEIN UNIDEF CITEDEF CONICET

Email: [cvassena@citedef.gob.ar](mailto:cvassena@citedef.gob.ar)

**3. Gabriel Pinto**

Título: **Aspectos claves en el llenado de los protocolos del CICUAL aplicado a ensayos protozoarios y otros patógenos.**

Lugar de trabajo: Área de Genética de la Facultad de Ciencias Veterinarias UBA, Instituto de Virología del CICVyA – INTA

Email: [gpinto@fvet.uba.ar](mailto:gpinto@fvet.uba.ar)



## RESÚMENES DE CONFERENCIAS

## CONFERENCIA INAGURAL

### Glycan-Based Vaccines and Biomarkers for Chagas Disease and Cutaneous Leishmaniasis.

#### Almeida IC

Department of Biological Sciences, Border Biomedical Research Center, University of Texas at El Paso (UTEP), El Paso, TX, E.U.A.

Correo electrónico de contacto: icalmeida@utep.edu

Chagas disease (CD) and cutaneous leishmaniasis (CL) are chronic infections caused by *Trypanosoma cruzi* and various species of *Leishmania*, respectively. These parasites affect millions of people around the world, annually causing high morbidity (CD and LC) and mortality (CD), and great social and economic burden. There are no prophylactic or therapeutic vaccines for these diseases. In contrast, the drugs used in the treatment of CD and CL are associated with serious adverse events, which can lead to treatment discontinuation (especially in CD), moderate efficacy, and/or drug resistance in both. In addition, there are no serological tests to assess chemotherapeutic efficacy in a reliable and short-term manner. In the case of CD, PCR can only be used for evaluation of therapeutic failure and is still of limited use in clinical settings in endemic areas because of the costs, and infrastructure and expertise requirements. Another major challenge is the lack of serological tools for the differential diagnosis of distinct clinical forms caused by the same parasite (e.g., *L. brasiliensis*) and even the differential diagnosis between CD and LC in endemic regions. Our work aims to develop these diagnostic tools, as well as vaccines based on sugars or glycans existing in great abundance on the surface of these parasites. These glycans are not expressed in humans or are found cryptically in human cells. Our laboratory, in collaboration with several research groups in the USA, Bolivia, Venezuela, Brazil, Argentina, Spain, and the UK, has been developing synthetic neoglycoproteins (NGPs) that have shown very promising results as biomarkers (BMKs) for differential diagnosis, and follow-up of CD or LC chemotherapy, as well as for the development of vaccines. Our work has been especially focused on glycans (or oligosaccharides) containing the sugars alpha-galactopyranose ( $\alpha$ -Galp or  $\alpha$ -Gal) or beta-galactofuranose ( $\beta$ -Galf), which is absent ( $\beta$ -Gal) or cryptic ( $\alpha$ -Gal) in humans. In collaboration with Dr. Katja Michael (UTEP) and Dr. Rosa A. Maldonado (UTEP) groups, in recent years we have managed to produce several synthetic glycans, which are covalently linked to a carrier protein to generate the NGPs. These NGPs have been used for experimental and preclinical studies for the differential diagnosis, follow-up of chemotherapy, experimental vaccines for CD and LC. In the coming years, we will be testing NGPs (existing or new) and other promising BMKs from groups in the US (FDA) and Spain (IPBLN, Granada) in an ongoing TESEO clinical trial 2b trial in Bolivia: (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03981523>; doi:10.1136/bmjopen-2021-052897), for early evaluation of the treatment of adult chronic CD patients with new regimens of benznidazole (BZN) or nifurtimox (NFX) in a 3-year follow-up. We expect that at least one or more of the new BZN and/or NFX chemotherapeutic regimens, as well as one or more of the NGPs and other BMKS to be tested in this clinical trial, will be validated for clinical use in CD. In conclusion, there is clearly an urgent need for diagnostic/prognostic reagents and vaccines, derived from long-term basic research carried out in research institutions throughout Latin America and other countries, to become products that can be used in the clinical settings, not only for CD and CL, but as well as in countless other neglected tropical diseases that cause so much suffering to the populations of affected countries.

## CONFERENCIA DE CLAUSURA

### Control epigenético y estructura 3D de la cromatina en el parásito *Trichomonas vaginalis*.

de Miguel N

Instituto Tecnológico Chascomus (INTECH), Chascomus, Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico de contacto: ndemiguel@intech.gov.ar

La tricomoniasis, provocada por el parásito protozoario unicelular *Trichomonas vaginalis*, es la enfermedad de transmisión sexual no viral más frecuente en el mundo entero. Existen diferentes cepas aisladas de pacientes que poseen fenotipos variables en cuanto a su capacidad de adherencia, agregación y citotoxicidad. Estas diferencias fenotípicas sugieren que, aún cuando las cepas poseen secuencias de ADN prácticamente idénticas, 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; nosotros proponemos que mecanismos epigenéticos podrían ser los responsables de los diferentes fenotipos observados entre las distintas cepas. En este sentido, en un trabajo inicial demostramos que la acetilación de histonas tiene un rol clave en la regulación de la expresión de genes involucrados en el proceso de patogénesis de *T. vaginalis*.

Otra de las modificaciones epigenéticas más importantes y mejor estudiados en organismos eucariotas multicelulares es la metilación del ADN. Nuestros resultados demuestran que *T. vaginales* posee altas cantidades de 6-metiladenina (6mA) y escasos niveles de 5-metilcitosina (5mC) en su genoma, a pesar de ser 5mC la marca más habitual en organismos eucariotas. Además, demostramos que 6mA se encuentra mayoritariamente en regiones intergénicas y que participa de la formación de estructuras de cromatina de tipo *loop*. Estudios recientes demuestran que la regulación de estructura tridimensional (3D) del ADN en el núcleo es un mecanismo fundamental para controlar la expresión génica. Los resultados obtenidos por nuestro grupo demuestran por primera vez que 6mA contribuye a la formación de la estructura 3D del ADN en *T. vaginalis* y que la formación de estas estructuras es importante para la regulación de genes de manera coordinada.



## C1

### **Proteínas con Bromodominios de *Trypanosoma cruzi*, una familia desconcertante.**

#### **Serra E**

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario-IBR (CONICET-UNR). Fac Cs Bioq y Farm UNR  
Correo electrónico de contacto: [eserra@fbioyf.unr.edu.ar](mailto:eserra@fbioyf.unr.edu.ar), [serra@ibr-conicet.gov.ar](mailto:serra@ibr-conicet.gov.ar)

Los bromodominios (BD) son pliegues estructurales que reconocen y unen residuos de lisina acetilados. Todas las células eucariotas conocidas poseen proteínas con BDs, de localización nuclear, asociadas a complejos de modificación de la cromatina. En estos complejos los BDs reconocen histonas acetiladas. En *T. cruzi* existen ocho proteínas con BDs, denominadas TcBDF1-8 y al menos seis de ellas son esenciales. TcBDF1 y TcBDF3 no son nucleares. TcBDF1 se localiza en el glicosoma, donde uniría enzimas acetiladas y TcBDF3 sobre el citoesqueleto, interaccionando con la  $\alpha$ -tubulina acetilada (K40). El resto de las proteínas son de localización nuclear y estarían participando en distintos complejos de modificación de la cromatina relacionados con el inicio y la elongación de la transcripción. Llamativamente, estos complejos parecen tener más de una proteína con bromodominio, una característica muy poco frecuente en otras células. Además, TcBDF7, la proteína con BD de *T. cruzi* con arquitectura de dominios más conservada, posee un BD conservado, pero carece del bolsillo hidrofóbico y de los aminoácidos esenciales para la unión a la K-ac. Si bien todos los BDs de *T. cruzi* poseen el pliegue característico, presentan distintas especificidades por inhibidores de bromodominios conocidos. Los resultados obtenidos a partir del estudio de bromodominio y otros dominios lectores y modificadores de la cromatina sugieren que *T. cruzi* posee una maquinaria compleja para introducir y mantener modificaciones en las histonas con el fin de modificar el estado transcripcional de la cromatina.



## C2

### **MYND the gap: Zn-finger proteins, gut microbiota and trypanosome migration in the tsetse.**

#### **Acosta-Serrano A**

Vector Biology Department, Liverpool School of Tropical Medicine, UK  
Correo electrónico de contacto: alvaro.acosta-serrano@lstmed.ac.uk

African trypanosomes are exclusively transmitted through the bite of a tsetse fly. Once inside the midgut, trypanosomes undergo a complex developmental cycle that allows parasites to colonize (and migrate to) different fly organs until they reach the salivary glands, where they become transmissible. The success of this journey depends on the environment trypanosomes encounter within the fly, including the type of bloodmeal(s), immune status and gut microbiome. In order to adapt to these challenges, the parasites respond by expressing a differential set of genes, a process controlled by different families of RNA-binding proteins. My lab studies the molecular interactions between tsetse flies and trypanosomes by using a combination of different *omics* and genetic approaches. In this lecture, I will show recent data on the identification and characterization of a new family of trypanosome RNA-binding proteins that contain one or more MYND Zn-finger domains, which appear essential for parasite migration within the fly. In addition, I will discuss how the tsetse symbiont *Sodalis glossinidius* appears to modulate trypanosome colonization and overall vectorial capacity.

## C3

**Engranaje molecular para subsistir: Proteínas del tráfico vesicular y la fagocitosis en el pequeño y antiguo protozoario *Entamoeba histolytica*.****Orozco E<sup>1</sup>, Javier Reyna R<sup>1</sup>, García-Rivera G<sup>1</sup>, Bañuelos C<sup>2</sup>, Betanzos A<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular y <sup>2</sup>Programa Transdisciplinario en Desarrollo Científico y Tecnológico para la Sociedad, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV), Ciudad de Mexico, Mexico 07360. <sup>3</sup>Consejo de Ciencia y Tecnología, Ciudad de Mexico, Mexico 03940.

*Entamoeba histolytica* es el protozoario responsable de la amibiasis humana, infección que afecta a 50 millones de personas en el mundo y causa 100,000 muertes al año, principalmente en lugares con condiciones sanitarias pobres. El trofozoíto, la fase infectiva del protozoario, es una célula de alto interés biológico debido a que es: altamente infectivo, muy fagocítico y presenta procesos metabólicos primitivos, cuyo estudio contribuye a entender la evolución de eventos fisiológicos más complicados en otros eucariontes. Durante la invasión del tejido hospedero, los trofozoítos presentan una extraordinaria actividad de remodelación de membranas (plasmática e internas) que les permiten moverse rápidamente, secretar enzimas y moléculas tóxicas, adherirse a la célula blanco, y finalmente, fagocitarla. La continua fusión y fisión de las membranas del trofozoíto también es importante en su sobrevivencia, particularmente en su nutrición y en el tráfico vesicular, que constituye el núcleo de muchas actividades celulares, como la división, la secreción y la endocitosis, entre otras. En estos procesos dinámicos participan de manera concertada varias moléculas conservadas a través de la evolución, que interaccionan entre sí para efectuar los distintos procesos celulares. Entre estas moléculas podemos mencionar las que constituyen la maquinaria del *Endosomal Sorting Complexes Required for Transport (ESCRT)*, la familia de Rab-GTPasas, el complejo EhCPADH, las proteínas del citoesqueleto, proteasas, SUMO y ubiquitina, entre otras. Aquí revisaremos brevemente lo que se conoce sobre las interacciones entre estas moléculas, para llevar a cabo procesos tan complejos como la supervivencia y virulencia de *E. histolytica*.

**C4****The impact of blood on *Leishmania* genetic exchange.****Donatelli Serafim T**

Vector Molecular Biology Section. Laboratory of Malaria and Vector Research. National Institutes of Health (NIH/NIAID).

Correo electrónico de contacto: tiago.donatelliserafim@nih.gov

The critical role of multiple blood meals on *Leishmania* establishment, differentiation and sand fly infectiousness has been recently established. Here we demonstrate an additional equally profound outcome to blood feeding of sand flies on *Leishmania* parasite development. *Leishmania* genetic exchange occurs inside the gut of the vector sand fly and has been shown to occur via intraspecies and interspecies combinations. Recently, genetic exchange was achieved in vitro with *Leishmania tropica* but failed with *Leishmania major*. To cross *L. major* in vitro, we discovered that a component in fresh serum is required for hybrid formation. Importantly, we observed the formation of what we called a “leishmania mating clump (LMC)”, a spherical structure formed by an aggregation of parasites that is required for *L. major* genetic exchange in vitro. The LMC was observed using sera from 14 different animals and was observed in all the 8 *Leishmania* species tested. Electron microscopy of the LMC reveals a close interaction of parasites with fused cells that likely promotes parasite genetic exchange. For in vivo *Leishmania* hybrid formation in the sand fly gut, for two of the three parasite lines used in parental combinations, hybrids only appear in the presence of the blood factor that triggers the LMC formation. Importantly, a subsequent uninfected bloodmeal significantly increases the number of flies with *Leishmania* hybrids. Collectively, these data demonstrate that a factor in the blood of a mammalian host promotes *Leishmania* genetic exchange inside its insect vector.

## C5

**Immunoregulation of cellular immunity and tissue homeostasis during Chagas disease.****Acosta Rodríguez E**

Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.  
Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología. CIBICI-CONICET.  
Correo electrónico de contacto: eva.acosta@unc.edu.ar

Immunoregulatory pathways are fundamental for host resistance to *T. cruzi* as they orchestrate balanced effector immune responses able to achieve parasite control without extensive tissue damage. Different subsets of the immune system keep in check the production of inflammatory cytokines during experimental *T. cruzi* infection by mechanisms that include secretion of immunomodulatory cytokines (i.e. IL-10, IL-17) or reactive nitrogen and oxygen species. In contrast, controversial roles have been reported for Foxp3+ regulatory CD4+ T (Treg) cells during the progression of this parasitic infection. The frequency and functionality of Treg cells are increased in the peripheral blood of infected patients that presented less severe cardiomyopathy, suggesting a beneficial role for this cell subset during human chronic Chagas disease. Differently, experimental models reported protective, limited and also deleterious effects for Treg cells during *T. cruzi* infection. However, none of these studies addressed the phenotypical and functional features of the Treg cell response along infection stages, and more importantly, all of them targeted this subset by non-specific approaches. This limitation delayed an accurate characterization of Treg cell responses during *T. cruzi* infection and, therefore, prevented any rational manipulation of this subset in order to modulate the outcome of the chronic disease. Our research efforts are oriented to understand how Treg cell responses impact on protective immunity, the control of parasite replication and immunopathogenesis during acute and chronic phases of this parasite infection. Using experimental models of acute and chronic *T. cruzi* infection in mouse strains that allow the identification and/or selective depletion of Treg cells, we explore how Treg cells change their specialization program and switch roles from deleterious to protective in the transition from acute to chronic *T. cruzi* infection. We also focus in aspects such as Treg cell subset dynamics between lymphoid and tissue residence and Treg cell functions in tissue repair and control of clinical disease severity.

## C6

### **Characterising insecticide resistance across multiple malaria vectors in West Africa.**

#### **Ingham VA**

Parasitology Unit, Universitätsklinikum Heidelberg

Insecticide based vector control is the single most important control method against human malaria. Indeed, between 2000 and 2015, over 80% of the reduction in malaria control was attributed to the use of insecticide treated bed nets (ITNs) and indoor residual spraying (IRS). The reliance on these tools and the use of relatively few public health insecticides has led to widespread insecticide resistance. The most important class of insecticides are the pyrethroids, these are used on all distributed ITNs and in many countries, as a component of IRS. The intense use of pyrethroids has led to extremely high intensity of resistance in the Anopheline vectors of malaria, with mosquitoes in Burkina Faso able to contact insecticides multiple times with no impact on their life history traits. Previously, insecticide resistance was attributed to three main mechanisms: changes to the target site of the insecticide, up-regulation of detoxification enzymes and thickening of the cuticle which reduces penetrance. However, my recent work has demonstrated that insecticide resistance is an extremely complex trait involving sequestration, multiple transcription factors, metabolic plasticity and changes to the microbiome. In this talk, I will highlight potential new insecticide resistance mechanisms in *Anopheles* mosquitoes, with a particular focus on different populations from West Africa.



## RESÚMENES DE SIMPOSIOS

## SIMPOSIO 1: Avances en el tratamiento de enfermedades parasitarias

### S1.1 Serological and molecular assessment of potential *Trypanosoma cruzi* infections in hospitalized parturient women in the U.S-Mexico border.

#### Maldonado RA

Department of Biological Science, Border Biomedical Research Center, The University of Texas at El Paso, El Paso-Texas, USA

Originally confined to rural communities of Latin American countries, Chagas disease (CD) is emerging in countries where it was not previously endemic due to increased global migration in recent decades. In the US approximately 300,000 people are estimated to have chronic CD. Congenital transmission has become more relevant throughout the years, especially in non-endemic areas due to the relevant number of women in fertile age infected with *T. cruzi*. Nonetheless, only a few studies on congenital CD have been done in non-endemic countries as the US, which could be explained by the lack of awareness from health professionals and adequate surveillance policies of congenital CD reports among pediatricians. The prevalence of congenital CD in pregnant women admitted in U.S. hospitals located in the border region was assessed in umbilical cord blood samples through CL-ELISA using nine different antigens (*T. cruzi* TcI, TcIV, TcVI, TcI/IV/VI, Y tGPI-MUC, Col tGPI-MUC, CLB tGPI-MUC, Y/Col/CLB tGPI-MUC and NGP24b), quantitative PCR for *T. cruzi* satDNA detection, trypomastigote excreted/secreted antigen (TESA) blot analysis and parasite genotyping through multilocus conventional PCR. In the CL-ELISA, TcI/IV/VI lysate mix showed higher reactivity (20.3%) followed by TcVI (18.0%), TcI (6.9%) and TcIV (6.4%) lysates. tGPI-MUCs showed higher reactivity from ChHSP against Col tGPI-MUC (30.4%), followed by Col/Y/CLB tGPI-MUC mix (29.9%), CLB tGPI-MUC (24.9%) and Y tGPI-MUC (14.3%). Alpha-Gal based NGP24b the highest of all the antigens used for CL-ELISA assessment (33.2%). From the CL-ELISA, 145 samples were positive for at least one of the antigens tested compared to the NHSP and were selected for confirmatory qPCR assessment, in which 33 patients (22.8%) were qPCR positive and 112 (77.2%) were negative. Subsequently, all qPCR products were submitted to Sanger sequencing and GenBank search (BLASTn), confirming the identity of *T. cruzi* satDNA in the samples tested. Positive qPCR umbilical cord plasma samples were submitted to TESA blots for Colombian and Y strains, in which our results showed that 27 (81.8%) out of 33 samples were reactive against TESA antigens from both strains, 2 (6.1%) samples showed reactivity only to the Colombian TESA, 1 (3.0%) sample showed reactivity only to the Y strain TESA and 3 (9.1%) samples were negative for both strains. Finally, all qPCR *T. cruzi* positive samples were submitted to identify parasite genotypes using a multilocus conventional PCR approach, where the parasite was successfully genotyped to at least one conclusive DTU in 32 out of 33 umbilical cord samples, 17 (56.7%) were confirmed to be TcI, 3 (10.0%) were confirmed to be TcII, 1 (3.3%) was confirmed to be TcIV and 3 (10.0%) were confirmed to be TcV (Figure 5). In 3 samples (10.0%), co-infections of DTU were found involving TcI with either TcIII, TcIV or TcV and a least 3 samples (10.0%) had inconclusive results. CL-ELISA assay using TGPI-MUCs and NGP24b as antigens combined with qPCR for *T. cruzi* satDNA detection were effective in detecting *T. cruzi* infection in umbilical cord samples from parturient women. Our results emphasize the need for increasing awareness about CD among patients and obstetricians and to possibly implement a *T. cruzi* screening protocol for pregnant women, as the infection rate among women in the U.S. border region is higher than previously assumed.

Funding: National Institute of Health (NIH/US); Border Biomedical Research Center at University of Texas at El Paso (BBRC/UTEP/U)



## **S1.2 Efficacy of topical Miltefosine formulations in an experimental model of cutaneous leishmaniasis.**

### **Carrer DC**

Instituto Ferreyra -INIMEC/CONICET- Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina  
Correo electrónico de contacto: dolorescarrer@immf.uncor.edu

Cutaneous leishmaniasis (CL) is a neglected tropical disease endemic in ~ 90 countries, with an increasing incidence. Presently available pharmacotherapy implies the systemic administration of moderately/very toxic drugs. Miltefosine (Milt) is the only FDA-approved drug to treat CL via the oral route (Impavido®). It produces side effects; in particular, teratogenic effects are of concern. A topical treatment would have the great advantage of minimising the systemic circulation of the drug, preventing side effects. We prepared dispersions containing Milt and liposomes of different compositions to enhance/modulate trans-epidermal penetration and evaluated in vitro and in vivo efficacy and toxicity, in vitro release rate of the drug and particles size stability with time. Treatments were topically administered to BALB/c mice infected with *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. The dispersions containing 0.5% Milt eliminated 99% of the parasites and cured the lesions with a complete reepithelisation, no visible scar and re-growth of hair. Fluid liposomes decreased the time to heal the lesion and the time needed to eliminate viable amastigotes from the lesion site. Relapse of the infection was not found 1 month after treatment in any case. Ultraflexible liposomes on the other hand had no significant in vitro effect but decreased in vivo efficacy. A topical Milt formulation including fluid liposomes seems a promising treatment against CL.

Funding: Fundación Bunge y Born; Secretaría de Ciencia y Tecnología – Universidad Nacional de Córdoba; CONICET.

## **SIMPOSIO 2: Científicos repatriados: retomando la investigación en argentina y la experiencia al regreso**

### **S2.1 Genética experimental de Plasmodium aplicada a comprender la movilidad del parásito y analizar nuevas drogas antimaláricas.**

#### **Montagna GN**

IIBIO (CONICET-UNSAM), San Martín, Argentina.

Correo electrónico de contacto: gmontagna@iib.unsam.edu.ar

La malaria o paludismo es causada por el parásito Plasmodium que alterna su ciclo vital entre el mosquito vector y el huésped mamífero. En la última década, la resistencia a los fármacos antipalúdicos comúnmente utilizados en el tratamiento ha surgido como uno de los principales retos en la erradicación de esta enfermedad. La movilidad es esencial para que Plasmodium logre la colonización del vector, la transmisión natural y la patogénesis del huésped. El motor molecular constituye un blanco interesante de drogas ya que está formado por proteínas únicas que median los procesos de migración e invasión celular, las cuales están altamente conservadas entre las especies de Plasmodium y otros parásitos apicomplejos. Nuestro objetivo es mejorar el conocimiento actual de la movilidad del parásito. Anteriormente, nuestros estudios aportaron evidencias genéticas del papel de una pequeña proteína de choque térmico, HSP20, en la regulación de la tracción y la movilidad de las formas infecciosas de Plasmodium en mamíferos. Para elucidar el mecanismo molecular por el cual la HSP20 regula la movilidad del parásito, primero generamos mutantes puntuales en sus dominios funcionales predichos. Luego investigamos cuáles son las moléculas que interactúan con la misma, entre las cuales encontramos proteínas que forman parte del anclaje del motor cuya función ya ha sido caracterizada previamente. También identificamos moléculas no descritas que podrían estar implicadas en el proceso de movilidad de los parásitos apicomplejos.

Una estrategia eficaz para el tratamiento de la malaria de pacientes infectados con distintas especies de Plasmodium es intervenir las vías esenciales del desarrollo del parásito en la etapa sintomática de la enfermedad, es decir durante la fase de replicación sanguínea. En ese contexto, existe evidencia de que la SUMOilación cumple un rol importante en la modulación de diversos procesos celulares en Plasmodium, por lo tanto, las enzimas que participan en esta vía podrían ser esenciales. En el laboratorio utilizamos el modelo de malaria en ratón, el cual nos permite estudiar la función de los genes de interés durante el ciclo de vida completo del parásito *P. berghei*, además de posibilitar la realización de ensayos preclínicos para estudiar nuevos compuestos. Utilizando ensayos de genética reversa proyectamos validar las proteasas SENP de la vía de SUMOilación de Plasmodium como blancos quimioterapéuticos y testear in vivo potenciales inhibidores de las mismas.

## S2.2 Presentación antigénica y *Trypanosoma cruzi*.

### Alloatti A

Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER) – CONICET/Universidad Nacional de Rosario.

Correo electrónico de contacto: [alloatti@idicer-conicet.gob.ar](mailto:alloatti@idicer-conicet.gob.ar)

*Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la Enfermedad de Chagas, una afección de alta incidencia en Argentina y otros países latinoamericanos. Los tratamientos para la parasitosis presentan una alta toxicidad con eficiencias variables de acuerdo al estadio de la infección, y para hacer el panorama más complejo, aún no existen vacunas aprobadas para prevenir la enfermedad.

En este contexto, el estudio de la interacción que se establece entre el parásito una vez que ingresa al hospedero y su sistema inmunitario, reviste una gran importancia. La respuesta inmunitaria que se genera durante la infección con *T. cruzi* articula diversos efectores de la inmunidad innata y adaptativa, con un rol preponderante de los linfocitos B y T. Si bien la relevancia de la respuesta mediada por linfocitos T CD8<sup>+</sup> (también denominados linfocitos citotóxicos) ha sido ampliamente estudiada, se desconocen los mecanismos de presentación antigénica que promueven la activación y proliferación de dichas células.

En este trabajo se generó una línea de ratones deficiente en el mecanismo de presentación cruzada del antígeno (Sec22b<sup>-/-</sup>), que frente a la infección con *T. cruzi* no fue capaz de contener la replicación del parásito, debido al establecimiento deficiente de la respuesta mediada por linfocitos T CD8<sup>+</sup> específica.

Asimismo, se comenzó a diseñar una plataforma de inmunización basada en células dendríticas para analizar diferentes antígenos y su potencial inmunogénico, así como la respuesta específica que se genera tras la vacunación. Se seleccionaron marcadores específicos para el ensayo AIM (activation-induced markers) y se comparó el establecimiento de respuesta específica mediante el uso de multímeros, ELISpot y AIM.

En conclusión, una presentación cruzada deficiente se asoció con la imposibilidad de controlar la infección causada por *Trypanosoma cruzi*, disminuyendo la supervivencia de los ratones inmunodeficientes.

## S2.3 Relación estructura-función en proteínas potencialmente claves para la replicación y reparación del ADN en *Toxoplasma gondii*

**Ruiz D, Turowski V, Angel S**

Instituto Tecnológico de Chascomús, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Correo electrónico de contacto: dmruiz@intech.gov.ar

La reparación por recombinación homóloga (*Homologous Recombination Repair*, HRR) resulta clave para mantener la integridad genómica durante la división celular. Hasta el momento, la información acerca de como ocurre este proceso en el parásito intracelular obligado *Toxoplasma gondii* es limitada y son necesarios nuevos estudios para comprender su funcionamiento.

En humanos, el inicio de la HRR requiere la acción del complejo MRN compuesto por un homodímero de la nucleasa **Mre11**, dos moléculas de la ATPasa **RAD50** y la proteína **Nbs**, el cual reconoce, se une y procesa el ADN dañado para su posterior reparación. El genoma de *T. gondii* codifica al menos 39 de las 81 proteínas del sistema HRR presentes en mamíferos y levaduras entre las cuales se encuentran los homólogos para Mre11 y RAD50, como en otros parásitos protozoarios, pero llamativamente carece de componentes claves en el proceso como Nbs1 y CtIP que integran y regulan la actividad del complejo MRN. En este sentido, teniendo en cuenta que Mre11 y RAD50 fueron predichas como esenciales en *T. gondii*, conocer las diferencias estructurales entre dichas proteínas y aquellas que forman el complejo MRN en humanos posibilitaría a futuro el diseño de fármacos capaces de inhibir específicamente esta vía en el parásito con escaso o nulo efecto en la célula hospedera.

La comparación del modelo tridimensional para Mre11 de *T. gondii* (*TgMre11*) con la estructura cristalina de su contraparte de mamíferos reveló que existen diferencias en las regiones relevantes para la dimerización e interacción con otras proteínas y con el ADN. Además, los resultados preliminares indican que la dimerización y actividad enzimática de la proteína *TgMre11* podrían estar regulados por el estado redox celular.

Fuente de financiamiento PICT 2017-2485 y NIH 1 R01 AI129807-01.

## SIMPOSIO 3: Epidemiología y vectores

### S3.1 Reproducción en los vectores de la enfermedad de chagas: el complejo camino hacia la ovogénesis en un modelo de triatomo.

Ramos FO<sup>1</sup>, Leyria J<sup>1,2</sup>, Nouzova M<sup>3,4</sup>, Fruttero LL<sup>1</sup>, Noriega, FG<sup>3,4</sup>, Ligabue-Braun R<sup>5</sup>, Canavoso LE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Bioquímica Clínica/CIBICI-CONICET, Facultad de Cs. Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina; <sup>2</sup>Dept. of Biology, University of Toronto Mississauga, Canada; <sup>3</sup>Dept. of Biological Sciences and Biomolecular Science Institute, Florida International University, USA; <sup>4</sup>Institute of Parasitology, Biology Centre CAS, Czech Republic, <sup>5</sup>Dept. of Pharmacosciences, Federal University of Health Sciences, Brazil. Correo electrónico de contacto: lilian.canavos@unc.edu.ar

En las hembras de triatominos, vectores de la enfermedad de Chagas, la vitelogénesis y la oviposición se encuentran bajo control nutricional y hormonal, siendo la hormona juvenil (HJ) la principal implicada en la regulación de la expresión de los genes de las proteínas precursoras del vitelo (PPVs) en cuerpo graso. HJ ejerce su acción mediante el receptor Metopreno-tolerante o Met. Met es miembro de una superfamilia de factores de transcripción que contienen los dominios “basic Helix Loop Helix” (bHLH) y “Per Arnt Sim” (PAS). Previamente demostramos que HJ desempeña un rol crítico en la ovogénesis del triatomo modelo *Dipetalogaster maxima*, un insecto hematófago vector de la enfermedad de Chagas, regulando la expresión de los genes de las PPVs vitelogenina (Vg) y lipoforina (Lp) en el cuerpo graso. También demostramos que, en el tejido ovárico, HJ modula la expresión de los genes de los receptores de Vg y Lp, RVg y RLp respectivamente. En este contexto, nuestro objetivo fue continuar profundizando en el conocimiento de los eventos que regulan la ovogénesis en los triatominos, caracterizando la participación de la vía de señalización HJ-Met en la fisiología del tejido ovárico de *D. maxima*. Se evaluó por primera vez en un triatomo los cambios del transcritto Met en el cuerpo graso y ovario, órganos blanco de HJ, en días representativos del ciclo reproductivo del vector. Los resultados mostraron niveles máximos de expresión a los 4 días post-alimentación en ambos tejidos. El gen Met de *D. maxima* (DmaxMet) fue secuenciado, posibilitando la caracterización genómica mediante análisis bio-informáticos y la realización del modelado para evaluar in silico la interacción entre Met y HJ. A partir de la secuencia se evidenció que DmaxMet posee los dominios principales reportados para otras especies de insectos. El modelado mostró el mapeo de cargas electrostáticas, revelando dos parches con concentraciones de cargas opuestas. El análisis de “docking” indicó que el dominio PAS-B de Met posee elevada afinidad por HJ III y por HJ III skip-bis epóxido (HJSB3), siendo esta última la forma molecular de HJ presente en la hemolinfa de *D. maxima*. Cuando se llevó a cabo el silenciamiento del gen Met mediante ARNi, se observó una disminución en los niveles del transcritto Vg, permitiendo inferir que en las hembras de *D. maxima*, la principal PPV es inducida según la vía clásica HJ-Met descrita en el cuerpo graso de otras especies de insectos. El silenciamiento de Met también indujo una “down” regulación de los genes de los receptores de las PPVs (RVg y RLp) y un menor desarrollo del tejido ovárico, sugiriendo que Met también sería un actor crítico para modular, vía HJ, el desarrollo de este tejido. Los resultados obtenidos permitirán explorar a futuro eventos cascada abajo de la acción regulatoria de HJ-Met, aportando información de potencial relevancia para el diseño e innovación de estrategias de control vectorial.

### S3.2 Caracterización de familias génicas relacionadas a la respuesta a insecticidas en *Triatoma infestans*, vector de *Trypanosoma cruzi*.

**Traverso L<sup>1</sup>, Latorre-Estivalis JM<sup>2</sup>, Fronza G<sup>3</sup>, Lobbia P<sup>4</sup>, Mougabure-Cueto G<sup>4</sup>, Ons S<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>LNI (g. v. CENEXA-CONICET-UNLP), CREG (FCE-UNLP), La Plata, Argentina. <sup>2</sup>IFIBYNE (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>IIIA (UNSAM-CONICET), San Martín, Argentina. <sup>4</sup>LIT-CEREVE (MSal), Santa María de Punilla, Argentina

*Triatoma infestans* es uno de los principales vectores de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas. La resistencia a insecticidas piretroides en esta especie es una de las causas que contribuye a su persistencia en zonas del Gran Chaco. La caracterización de familias génicas involucradas en la respuesta a los tóxicos es indispensable para estudiar su función en la detoxificación y/o la resistencia a insecticidas. Si bien algunas de estas familias génicas han sido caracterizadas en triatominos, otras familias importantes aún no han sido estudiadas en este contexto. Entre ellas, se encuentran las proteínas quimiosensoriales (CSP), las proteínas de shock térmico (HSP) y los transportadores ABC. En el presente trabajo, se realizó un análisis de expresión diferencial mediante *RNA-seq* en una población de *T. infestans* proveniente de Chaco, a fin de comparar la expresión génica de ninfas de primer estadio 4 h después de un tratamiento con deltametrina en su dosis letal 30, en comparación con insectos control. Se ensambló un transcriptoma con alto nivel de completitud que permitió caracterizar familias génicas. Se halló que tres CSP, una HSP70 y un ABCH se encuentran modulados por la intoxicación en *T. infestans*. Asimismo, se realizó la búsqueda de proteínas HSP70 y ABC en el genoma del triatomino *Rhodnius prolixus*. El análisis filogenético evidenció la conservación de algunas proteínas en triatominos mientras que otras parecen ser especie-específicas. Asimismo, en *T. infestans* se encontraron grupos con patrones de expresión similares en respuesta al insecticida, en algunos casos coincidente con su clasificación filogenética. Además de evidencia de expresión, este trabajo aporta información de secuencia, clave para la realización de estudios moleculares y fisiológicos. En conjunto, estos resultados permitirán plantear nuevas hipótesis para estudiar el rol de estas proteínas en la respuesta a insecticidas en triatominos.

### **S3.3 Red Argentina de la Vigilancia a la Resistencia a Plaguicidas en uso en salud pública (RAREP): interrelación entre ciencia y gestión en Salud.**

#### **Manteca Acosta M**

Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemoepidemias. ANLIS-Malbran. Ministerio de Salud de la Nación.

Correo electrónico de contacto: mariana.manteca@gmail.com

Las enfermedades transmitidas por vectores, como Chagas, leishmaniasis y dengue, tienen como principal herramienta de control para reducir las poblaciones de insectos vectores el uso de insecticidas. Si bien esta estrategia fue útil hasta el momento para su control, el uso indiscriminado de plaguicidas ha propiciado el surgimiento y propagación de poblaciones resistentes de especies de insectos vectores de relevancia sanitaria en todo el mundo, y en particular en nuestra región. La implementación de un manejo integrado de vectores, que reduzca a un mínimo el uso de plaguicidas, requiere de la urgente investigación y subsiguiente implementación de estrategias para el monitoreo y manejo de resistencia. Para ello, dentro del Ministerio de Salud de la Nación, se conformó la “Red Argentina de Vigilancia de la Resistencia a los Plaguicidas de uso en Salud Pública” (RAREP), la cual está coordinada por el Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemo-epidemias (CeNDIE-ANLIS Malbrán) y la Dirección de Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores y posee un comité científico técnico interinstitucional e interministerial que incluye organismos, representados por el Ministerio de Salud de la Nación, ANLIS-Malbrán, CONICET, UNLP, ANMAT, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación y apoyo de la Organización Panamericana de la Salud. La RAREP tiene como objetivo general monitorear la resistencia a plaguicidas en artrópodos vectores de agentes patógenos, para optimizar la eficacia y el impacto epidemiológico de las actividades de control de las problemáticas vectoriales que realiza el Ministerio de Salud de la Nación, y proponer alternativas de control de estas enfermedades con perspectiva salud ambiental. Consideramos que este tipo de articulación interministerial, interinstitucional y multidisciplinaria es la manera de lograr el desarrollo de estrategias eficaces y que mitiguen la resistencia a plaguicidas, promoviendo un manejo eficiente de insectos vectores a nivel nacional, con una perspectiva enfocada en la salud pública y medioambiental, según los lineamientos del enfoque multisectorial y sustentables de los Objetivos de Desarrollo Sostenible.

## SIMPOSIO 4: Actualizaciones parasitológicas en Argentina

### S4.1 Zoonosis y econosis parasitarias en el sudoeste de la provincia de buenos aires: trichinellosis y amebas de vida libre.

**Randazzo V<sup>1,2</sup>, Lucchi L<sup>2</sup>, Basabe N<sup>1,2</sup>, La Sala L<sup>3</sup>, Ranilla Lucas<sup>1</sup>, García Alcorta L<sup>1</sup>, Zurita DG<sup>1</sup>, Costamagna S<sup>4</sup>, Visciarelli E<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Sur. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Cátedra de Microbiología y Parasitología. Bahía Blanca, Buenos Aires. Argentina. <sup>2</sup>Universidad Nacional del Sur. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Cátedra de Parasitología Clínica. Bahía Blanca, Buenos Aires. Argentina., <sup>3</sup> CONICET. Universidad Nacional del Sur. Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur(INBIOSUR) Bahía Blanca, Argentina. <sup>4</sup>Universidad Nacional de la Plata, Argentina.  
Correo electrónico de contacto: viviana.randazzo@uns.edu.ar

Las enfermedades zoonóticas y las econosis, están directamente relacionadas con actividades antrópicas, fallas en sistemas de prevención y control, pautas culturales, cambios ambientales, fragmentación de ecosistemas naturales y pérdidas de biodiversidad nativa.

En el marco de un amplio proyecto de investigación en el que se abordaron problemáticas sanitarias de impacto regional, en la Universidad Nacional del Sur(UNS), se contribuyó a la comprensión de la biología y epidemiología de *Trichinella* spp, agente etiológico de trichinellosis y de Amebas de Vida libre, protistas ubicuos y anfitriónicos, agentes causales de econosis, una patología emergente.

La trichinellosis es una zoonosis parasitaria transmitida por consumo de alimentos contaminados con nematodos del género *Trichinella* spp. En Argentina la enfermedad es endémica y principalmente transmitida por cerdos y amplificada por ratas sinantrópicas. Durante el año 2021, el Servicio Nacional de Vigilancia de Salud notificó más de 600 casos de trichinellosis humana. Si bien durante años, la única especie involucrada en brotes humanos y focos animales en nuestro país fue *T. spiralis* en la actualidad han sido reportadas 4 especies: *T. spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. patagoniensis* y *T. britovi*. Entre los años 2000-2021, en el Sudoeste Bonaerense(SOB) hubo numerosos brotes de trichinellosis humana que contribuyeron de manera significativa a la estadística nacional. Desde la UNS, estudiamos aspectos biológicos, morfológicos, diagnósticos y epidemiológicos de *T. spiralis*, profundizando investigaciones acerca de la viabilidad, vitalidad e infectividad del parásito bajo condiciones experimentales, generando conocimiento acerca de los factores que influyen en el comportamiento espacial y temporal de los brotes de la zoonosis.

Con referencia a Amebas de Vida libre (AVL) y ante la escasa información epidemiológica regional, se investigó la presencia de las mismas en muestras de humedales continentales del SOB, usados para riego, consumo y /o recreación. En cada sitio se registraron temperatura, pH, conductividad eléctrica, turbidez e informes bacteriológicos. Se realizaron observaciones microscópicas, cultivos, identificaciones morfológicas y tipificación molecular de los aislados y se aplicaron modelos de nicho ecológico. Los resultados mostraron que el 98% de los cultivos identificados molecularmente fueron positivos para AVL con confirmación de los géneros *Acanthamoeba* y/o *Naegleria*. Dada la gravedad de las patologías ocasionadas, la elevada morbimortalidad de las mismas y la capacidad de actuar como reservorio de microorganismos potencialmente patógenos, la distribución, versatilidad y adaptabilidad de las AVL en diferentes condiciones estacionales, físico-químicas y bacteriológicas se constituyen como señal de alarma.





La profundización en el conocimiento de ambas temáticas y su sociabilización son herramientas fundamentales para emprender acciones de prevención sobre el riesgo sanitario que ellas implican.

Financiamiento: PGI 24/B273- 2018/2022. SECyT UNS

## S4.2 Blastocystis, un parásito ubicuo.

### Kozubsky L

Cátedra de Parasitología. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP.

Correo electrónico de contacto: kozubsky@biol.unlp.edu.ar

Blastocystis es uno de los parásitos intestinales zoonóticos de mayor prevalencia y de distribución mundial. Es un organismo unicelular, anaerobio, cuya taxonomía ha sido motivo de estudios, controversias y revisiones. Se caracteriza por una gran variabilidad genética, con la existencia de al menos 17 subtipos, aunque estudios recientes ampliarían ese número. Esto ha hecho dificultoso su estudio y ha llevado también a controversias en cuanto a su rol como patógeno tanto en animales como en humanos. El subtipo 3 es el más frecuentemente hallado en el hombre. En nuestro grupo hemos efectuado relevamientos epidemiológicos a fin de detectar la presencia del parásito en diversas fuentes. En estudios efectuados sobre 750 heces de niños de jardines de infantes de zonas periféricas de La Plata, se lo halló que el 57% estaba parasitado y más del 50 % lo estaba por Blastocystis. En un hogar de tránsito se lo halló en el 74,5% de las muestras fecales. En un relevamiento en adultos mayores de 65 años institucionalizados se encontró el 100% de ellos parasitados por este parásito al igual que el personal de la institución. En una encuesta epidemiológica sobre voluntarios con formación universitaria con acceso a servicios sanitarios, el 25% estaba parasitado y de estos el 60% lo estaba por Blastocystis. En estudios sobre gallinas de establecimientos avícolas fue encontrado este parásito en el 74% de las muestras fecales. Sobre la capa superficial externa de huevos de igual procedencia se lo halló en el 30% de muestras analizadas. Así mismo en un estudio de heces de animales del zoológico platense cuando este funcionaba, se lo encontró en 16 especies animales. En materias fecales de animales de la Estación de Cría de Animales Salvajes se lo detectó en especies como axis, mono carayá y ciervo dama. En muestras de frutas y verduras, de consumo humano en forma cruda, provenientes en general del Mercado Regional de La Plata, se detectó su presencia en rabanitos, rúcula, lechuga, espinaca, puerros y frutillas. En un estudio preliminar sobre aguas superficiales de un arroyo de zona periférica platense también se hallaron sus formas parasitarias. Estos hallazgos revelan en nuestro medio un panorama de amplia distribución humana, zoonótica y ambiental de Blastocystis. Se debe prestar atención a su presencia y considerar su potencialidad patogénica. Cada vez existen más reportes que le atribuyen carácter patógeno. Si bien no invade la mucosa intestinal, es capaz de producir reacción inflamatoria y edema de la lámina propia colónica. Se lo vincula con alta frecuencia con el síndrome de colon irritable. Se ha sugerido también una estrecha interacción parasitaria con la microbiota intestinal. Se lo ha asociado a erupciones cutáneas, urticarias agudas, angioedema y prurito palmoplantar. Su potencialidad patogénica estaría asociada a determinados subtipos, lo que aún no se ha definido completamente.

### **S4.3 Epidemiología de las parasitosis intestinales por protistas. Distribución actual de las infecciones humanas en Argentina, implicancias sanitarias.**

#### **Zonta ML, Navone GT**

Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) (CONICET-UNLP). Boulevard 120 S/N, La Plata (1900).

Correo electrónico de contacto: lorenazonta@cepave.edu.ar; gnavone@cepave.edu.ar

Las parasitosis intestinales son un problema de salud pública a nivel global, con mayor prevalencia en poblaciones vulnerables de países en desarrollo. Están incluidas entre las Enfermedades Infecciosas Desatendidas y su impacto en la salud se evidencia especialmente en el desarrollo físico y cognitivo de los niños, produciendo desde trastornos gastrointestinales hasta anemia y desnutrición. Las poblaciones que presentan mayor riesgo son aquellas con dificultades en el acceso a servicios de salud y saneamiento ambiental básico. Argentina muestra un complejo mosaico de variabilidad geográfica, ambiental, social y económica en su territorio y revela diferencias muy marcadas de estos aspectos. En este marco nos propusimos caracterizar el perfil parasitológico de distintas poblaciones humanas y analizar su relación con los factores ambientales y socio-económicos presentes. Desde el año 2005 nuestro grupo viene desarrollando sus investigaciones especialmente en población infanto-juvenil (1-14 años) de diferentes localidades de 9 provincias argentinas distribuidas en el NEA, NOA, Centro y Sur del territorio argentino. El examen coproparasitoscópico (sedimentación -Ritchie- y flotación -Willis o Sheather-), fue el método de referencia que permitió el diagnóstico de protozoos y helmintos, mientras que las técnicas moleculares (PCR) contribuyeron con la identificación de las especies parásitas más controversiales. El relevamiento de las condiciones ambientales y socio-económicas se realizó mediante encuestas estructuradas. De 4.604 individuos analizados, el 69% resultó parasitado por al menos una especie. La infección por protozoos fue la más frecuente (54%), seguida por los helmintos con el 39% y solo el 6% correspondió a geohelmintos. Los protozoos con potencial patogénico estuvieron presentes en el 50% de la población total analizada. *Blastocystis* sp., *Giardia lamblia*, *Endolimax nana* y *Entamoeba coli* fueron hallados en todas las provincias. *Cryptosporidium* spp. y *Dientamoeba fragilis* se encontraron sólo en Buenos Aires. El complejo *E. histolytica/dispar* fue más frecuente en Misiones. Chubut registró el valor más bajo para *G. lamblia* (6%). Algunos protozoos mostraron una amplia distribución mientras que otros mantienen una distribución geográfica específica. La infección por diferentes especies estuvo asociada a viviendas construidas con materiales precarios y pisos de tierra, sin agua de red, cloacas ni recolección de residuos. También se observó asociación entre estar parasitado y la presencia de hacinamiento crítico en los hogares. El nivel educativo básico y la falta de un trabajo estable de los padres/tutores representaron factores de riesgo de parasitosis. En este contexto nuestro compromiso nos lleva a transmitir conocimiento acerca de la biología y modos de transmisión de los enteroparásitos para contribuir a la consolidación de prácticas de prevención sostenibles en el tiempo.

## SIMPOSIO 5: Biología molecular y celular

### S5.1 SUMOilación en tripanosomátidos: regulación de procesos celulares esenciales para el ciclo de vida y la patogénesis.

#### Iribarren PA

IIBIO (CONICET-UNSAM), San Martín, Argentina,  
Correo electrónico de contacto: piribarren@iib.unsam.edu.ar

La SUMOilación es una modificación post-traducciona conservada en eucariotas que involucra la unión covalente y reversible de una proteína pequeña con homología estructural a ubiquitina, llamada SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier), a una gran variedad de sustratos, alterando su superficie de interacción con efectos diversos dependientes del blanco modificado. En tripanosomátidos la SUMOilación ha cobrado relevancia en los últimos años, especialmente el estudio de su participación en la regulación de procesos celulares claves en estos organismos. En *T. cruzi* y *T. brucei* SUMO se encuentra conjugado principalmente a proteínas de localización nuclear, involucradas en procesos como replicación y reparación del ADN, transcripción y modificación de histonas, entre otros. La proteína SUMO es capaz a su vez de formar estructuras poliméricas que, pese a no ser esenciales para la supervivencia del parásito, participan activamente en la organización nuclear de estructuras fundamentales para la regulación de su ciclo de vida y el proceso de patogénesis. De manera particular, en el estadio sanguíneo de *T. brucei*, las proteínas SUMOiladas se encuentran concentradas en un foco extranucleolar característico (HSF), regulando positivamente la expresión monoalélica de su glicoproteína variable de superficie (VSG), mecanismo fundamental del complejo proceso de variación antigénica de este organismo. En este contexto, alteraciones en la dinámica de estas estructuras mediante la sobre-expresión de la principal proteasa de SUMO, TbSENP, nos han permitido evidenciar un aumento significativo en la frecuencia de variación antigénica de *T. brucei*, observándose el desensamblado del HSF y del complejo encargado de la transcripción de la VSG activa, enriquecido en ARN Polimerasa I. Además, hemos podido evaluar la relevancia de las cadenas de SUMO en un modelo de infección murino, observando de manera inesperada parasitemias oscilantes en los animales infectados y una marcada tendencia hacia la diferenciación a formas quiescentes, pre-adaptadas para su replicación en el vector, en parásitos incapaces de formar estructuras catenarias. En conjunto, estas observaciones resaltan el rol fundamental de la SUMOilación en la biología de estos parásitos, sugiriendo la importancia de su modulación en la coordinación de procesos esenciales de su ciclo de vida como son la variación antigénica y la diferenciación en el estadio sanguíneo de *T. brucei*.

## S5.2 Los transcritos del principal antígeno de superficie en *Trypanosoma brucei* son regulados por una proteína de unión a ARN no convencional

Melo do Nascimento L<sup>1</sup>, Egler F<sup>1</sup>, Arnold K<sup>1</sup>, Papavasiliou N<sup>2</sup>, Clayton C<sup>1</sup>, Erben E<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Centre for Molecular Biology of Heidelberg University (ZMBH), Alemania; <sup>2</sup>Division of Immune Diversity, Deutsche Krebsforschungszentrum (DKFZ), Alemania; <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB), Argentina.

Correo electrónico de contacto: eerben@iib.unsam.edu.ar

La tripanosomiasis humana africana es transmitida por la picadura de la mosca tsé-tsé infectada con subespecies del parásito *Trypanosoma brucei*. Como ocurre en otros eucariotas, las transiciones del ciclo de vida en estos organismos son impulsadas por cambios ambientales que activan vías específicas de transducción de señales. Sin embargo, en tripanosomas, el control de la expresión génica ocurre principalmente mediante mecanismos post-transcripcionales. Por ello, las proteínas de unión a ARN (RBP) cumplen el rol que normalmente llevan a cabo en otros eucariotas los factores de transcripción.

En el hospedador, el parásito prolifera evadiendo la respuesta inmune humoral mediante la variación antigénica de sus glicoproteínas de superficie, VSG. En el torrente sanguíneo, las VSG son reconocidas por el sistema inmune disminuyendo así el grado de parasitemia. Sin embargo, algunos tripanosomas sobreviven al intercambiarlas por una versión antigénica diferente que no es reconocida por los anticuerpos circulantes. En su diferenciación a las formas procíclicas, la transcripción de VSG es interrumpida, el VSG ARNm se vuelve inestable y se pierde la cubierta de VSG. Si bien los genes que codifican VSG son evidentemente diferentes entre sí, sus 3'-UTR contienen dos elementos conservados de 8- y 16-mer con capacidad regulatoria. Se sabe que el elemento de 16-mer es esencial para mantener la estabilidad del transcripto, pero se desconocían los factores y mecanismos moleculares involucrados.

Recientemente, mediante la purificación de los complejos ribonucleoproteicos de VSG (mRNPs), identificamos a CFB2 - una proteína del tipo F-box - como el factor estabilizante del transcripto de VSG. Proteínas de este tipo forman parte del complejo ubiquitina-proteasoma SCF (SKP1-CUL1-F-box) colocando a CFB2 en la interfaz de la proteólisis y la biología del ARN. Demostramos también su mecanismo de acción: CFB2 recluta a un complejo estabilizador que incluye las proteínas MKT1, PBP1, PABP2, eIF4E6 y eIF4G5. No sólo demostramos que la acción de CFB2 requiere la presencia del elemento conservado de 16-mer, sino que además encontramos que el elemento de 8-mer tendría efectos desestabilizantes. Durante la diferenciación, el nivel de CFB2 disminuye hasta desaparecer mientras que otra proteína aún sin identificar, degradaría activamente al transcripto de VSG al reconocer este elemento de 8-mer. Nuestros resultados sugieren que la interacción de CFB2 con SKP1 promueve la degradación de CFB2, regulando así su abundancia. Esto podría limitar la síntesis de VSG a niveles óptimos, evitando así la sobrecarga de la vía secretora.

Nuestros resultados no sólo explican cómo una proteína de unión a ARN no convencional estabiliza de forma estadio-específica al ARNm del factor clave para la patogenicidad del parásito (VSG), sino que también ofrecen nuevos blancos moleculares y mecanismos esenciales plausibles de intervención terapéutica.

### S5.3 *Tritrichomonas foetus*: caracterización biológica y molecular.

**Abdala ME<sup>1,2,3</sup>, López LA<sup>1,2</sup>, Luque ME<sup>1,2,3</sup>, Rivero MB<sup>1,3</sup>, Carranza PG<sup>1,2,3</sup>, Volta BJ<sup>1,2,3</sup>, Luna BE<sup>1</sup>, Di Lullo D<sup>1</sup>, Assis MA<sup>1,3</sup>, Scrimini S<sup>1,3</sup>, Rivero FD<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Inmunología y Microbiología (LaBIM) Instituto Multidisciplinario de Salud, Tecnología y Desarrollo (IMSaTeD), CONICET- UNSE, Santiago del Estero, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Agronomía y Agroindustrias (FAyA), UNSE, Santiago del Estero, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Médicas (FCM), UNSE, Santiago del Estero, Argentina.

Correo electrónico de contacto: fdrparasito@gmail.com

La Tricomonosis Bovina (TB), enfermedad de transmisión sexual (ETS) endémica en países con ganadería extensiva y servicio natural, representa una de las causas más comunes de falla reproductiva. Su agente causal es el protozoario parásito flagelado *Tritrichomonas foetus*, el cual es capaz de infectar el tracto urogenital del ganado bovino provocando endometritis, infertilidad y muerte prematura del embrión, lo que genera cuantiosas pérdidas económicas. Para su tratamiento se utilizan 5-nitroimidazoles y sus derivados, pero la aparición de mecanismos de resistencia, las dificultades en el diagnóstico y seguimiento y la ausencia de una vacuna eficaz predisponen el sacrificio de los animales infectados como la opción más conveniente para los productores.

En la última década, la región del Noroeste Argentino (NOA), en particular la provincia de Santiago del Estero ha incrementado su producción bovino-ganadera alcanzando valores cercanos a 1.700.000 cabezas como consecuencia del desplazamiento de la ganadería desde otras regiones que hoy se dedican a la producción agraria. Este insipiente incremento planteó la necesidad de contar con la tecnología e infraestructura necesaria para acompañar dicha producción. En este contexto, a través de políticas nacionales y provinciales y convenios con CONICET y las universidades locales, se crearon centros de investigación y transferencias de tecnologías con el objetivo de abordar problemáticas de interés regional. De esta manera, nuestro grupo de investigación comenzó a trabajar en las enfermedades reproductivas del ganado bovino, siendo la Tricomonosis nuestro principal blanco de estudio. Realizamos un abordaje integral de esta parasitosis desde la investigación básica y aplicada hasta la transferencia de tecnologías. Creamos el primer y único laboratorio de diagnóstico de Tricomonosis en Santiago del Estero y zonas aledañas del NOA, resolviendo una demanda concreta de los productores y médicos veterinarios. Al mismo tiempo, el servicio brindado nos permitió obtener muestras biológicas (aislamientos, sueros, etc.) para realizar estudios bioquímicos y moleculares. Nuestro trabajo se centra en la caracterización de aislamientos de *T. foetus* con el objetivo de desarrollar nuevos métodos de diagnóstico y/o tratamiento para la TB. En este contexto, hemos evaluado la susceptibilidad *in vitro* de aislamientos frente a metronidazol utilizando citometría de flujo, realizamos la caracterización de proteínas de superficie y aquellas liberadas por el parásito a través de espectrometría de masas y pusimos en marcha ensayos inmunológicos para identificar posibles blancos antigénicos. Actualmente, luego de un análisis exhaustivo, hemos seleccionado antígenos candidatos y nos encontramos en la etapa de producción de proteínas recombinantes y ensayos con animales de experimentación con el objetivo de obtener nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento que contribuyan al control de la Tricomonosis Bovina.

## SIMPOSIO 6: Innovación diagnóstica en enfermedades parasitarias

### S6.1 Test molecular para Chagas neonatal: desafíos del diseño en función de los escenarios clínicos y productivos posibles.

**Larocca L\*, Stolowicz FG\*, Werbajh S, Vojnov AA, Carrillo C**

\*ambas autoras contribuyeron equitativamente

ICT Milstein, CONICET – Fundación Cassará, Buenos Aires, Argentina

Correo electrónico de contacto: ccarrillo@centromilstein.org.ar

Las enfermedades infecciosas causan gran impacto en la salud pública y la productividad. En salud humana el acceso a un diagnóstico oportuno es un derecho que puede hacer la diferencia entre salud y morbimortalidad.

Existe una vacancia en métodos de diagnóstico adaptados al sujeto en estudio, tipo de muestra y agente infeccioso, pero además a las posibilidades de usuarios, beneficiarios y escenarios reales.

Nuestro OBJETIVO GENERAL es desarrollar y transferir tests efectivos, asequibles y de uso posible en toda condición para la detección de agentes infecciosos.

En el año 2013 recibimos un subsidio FONARSEC (ANPCyT) para desarrollar un kit de diagnóstico, basado en *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP), para Chagas en población neonatal.

En Argentina nacen por año ~1.400 niños infectados. La detección precoz es fundamental para un tratamiento efectivo; sin embargo, sólo se identifica un ~25% de los casos anuales.

Para abordar dicho problema, desarrollamos un test (el “Chagas NeoKit”) capaz de detectar 1 copia del templado de ADN de *Trypanosoma cruzi* por reacción; con total reproducibilidad por encima del límite de detección (un parásito) establecido por ensayos de repetitividad. El kit reconoce las 6 Unidades Discretas de Tipificación de *T. cruzi* y no presenta reacción cruzada con otros genomas, tanto de organismos relacionados filogenéticamente como contaminantes de la muestra.

El kit fue diseñado para funcionar directamente con una muestra universalizada en la atención neonatal: la tarjeta de Pesquisa Neonatal (PPN); también pueden usarse sangre y ADN. Sólo se requiere el uso de un dispositivo térmico; no son necesarias pipetas, centrífugas ni otros equipos de laboratorio y la lectura del resultado es simplificada por tiras reactivas “*lateral flow dipsticks*” (LFD). Definida la configuración del kit, se evaluó su estabilidad y, por otro lado, su desempeño clínico en colaboración con los Hospitales Durand y Ramos Mejía (CABA) y Perrando (Resistencia, Chaco). Así, el Chagas Neokit fue el primer reactivo de detección molecular argentino aprobado por ANMAT (2017).

Elaboramos los Procedimientos Operativos Estandarizados (POE) para la producción industrial a escala del kit, se produjo un lote piloto de 400 reacciones y se inició un estudio clínico ampliado, en colaboración con Ministerio de Salud de la Provincia de Chaco (Mayo 2019).

Capitalizando la experiencia creamos la *Plataforma Tecnológica de Amplificación Molecular Isotérmica “AMI”* y replicamos el proceso de desarrollo para otros agentes infecciosos -con distinto grado de avance-, destacándose el NeoKit COVID-19 (ANMAT, Mayo 2020).

Este trabajo permitió transformar una reacción *in vitro* en un producto transferido a la industria; realizar presentaciones de propiedad intelectual nacional e internacionales; e instalar una empresa de base tecnológica para la producción de kits. Esperamos que esta experiencia motive a colegas a transferir sus conocimientos para el desarrollo tecnológico y social.



## S6.2 *Trypanosoma vivax*, el nuevo desafío en el diagnóstico veterinario.

**Castro GV<sup>1</sup>, Allassia M<sup>2</sup>, González LN<sup>3</sup>, Greif G<sup>4</sup>, Marcipar I<sup>1</sup>, Arias D<sup>3</sup>, Bontempi I<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Hospital de Salud Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Enzimología Molecular. Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina; Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno. Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur de Montevideo. Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico de contacto: iabontempi@gmail.com

*Trypanosoma vivax* es una de las especies que causa la Tripanosomiasis africana animal (TAA), tanto en África subsahariana como en América del Sur. La TAA se caracteriza por la presencia intermitente de parásitos en sangre, fiebre, anemia y pérdida de la condición corporal; ocasionando productividad reducida y alta mortalidad en los bovinos afectados. El impacto de la tripanosomiasis bovina en América Latina no se ha estudiado en profundidad, pero en África subsahariana las pérdidas se han estimado en aproximadamente 4500 millones de dólares. En Argentina, recientes reportes han evidenciado la presencia de tripanosomiasis bovina en tambos en las provincias de Formosa, Corrientes, Chaco, Córdoba, Buenos Aires y Santa Fe, siendo *T. vivax* el principal *Trypanosoma* encontrado. Sin embargo, el diagnóstico de la TAA dentro del rodeo se ve obstaculizado principalmente debido a que el parásito desencadena síntomas inespecíficos y puede ser asociado a numerosas patologías. Existen métodos parasitológicos directos que comúnmente se utilizan en el diagnóstico de la TAA, pero solo son sensibles durante los estadios de gran parasitemia. Es por esto que se necesitan nuevos diagnósticos, rápidos y económicos, para la determinación de la TAA en nuestro país.

Si bien en Argentina *T. vivax* se describió inicialmente en la provincia de Formosa en el año 2008, no fue hasta el 2015-2017 donde se generaron los primeros brotes masivos en las provincias de Santa Fe y Córdoba, en donde se concentra la cuenca lechera de nuestro País. Frente al avance de este nuevo patógeno, comenzamos el testeo en diferentes establecimientos lecheros, mediante el diagnóstico molecular del gen CatL. Hasta la fecha hemos procesado más de 600 muestras provenientes de 13 establecimientos, obteniendo un 79% positividad en los pools de muestras de bovinos analizados.

Con esas muestras procedimos a poner a punto un diagnóstico por ELISA empleando antígenos recombinantes. Empleamos proteínas recombinantes, porque *T. vivax* no crece en cultivo axénico y solo se desarrolla en bovinos, caprinos y ovinos. Los primeros resultados arrojaron una sensibilidad y especificidad notablemente alta del 93,81% y 95,83%, respectivamente. Con este ensayo serológico evaluamos más de 400 sueros de bovinos de zonas afectadas por *T. vivax* y encontramos una prevalencia promedio del 76.6 %.

La TAA es una enfermedad que de a poco se ha establecido en nuestro país. En pocos años se expandió de una a seis provincias. Con el cambio climático, y el consecuente desplazamiento del vector (principalmente tábanos), nuevas provincias serán afectadas, no solo por la infección de bovinos, sino también de caprinos y ovinos. Mejorar el seguimiento epidemiológico y contribuir al diagnóstico son las primeras acciones necesarias para contener y controlar esta enfermedad, pero también se requiere el desarrollo de nuevos tratamientos y vacunas.



### S6.3 TSSA: from yet another *Trypanosoma cruzi* surface antigen to the most appealing candidate for the development of parasite serotyping assays.

Buscaglia CA<sup>1</sup>, Balouz V<sup>1</sup>, Romer G<sup>1</sup>, Carmona SJ<sup>2</sup>, Bracco L<sup>2</sup>, Ricci A<sup>2</sup>, Berná L<sup>3</sup>, Robello C<sup>3</sup>, Altcheh J<sup>4</sup>, Agüero F<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular de Protozoarios, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Trypanosomatics Laboratory, IIBio, UNSAM-CONICET. <sup>3</sup>Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur, Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Servicio de Parasitología-Chagas, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez e Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP), CONICET-GCBA, Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico de contacto: cbuscaglia@iib.unsam.edu.ar

*Trypanosoma cruzi*, the protozoan agent of Chagas Disease, displays a highly structured population, with multiple strains that could be grouped into six discrete typing units (DTU). In addition to extensive genetic variability, these DTUs present distinct geographical distribution, specific ecological associations with (at least partially) non-overlapping spectra of competent vectors and/or susceptible mammals, and differences in relevant epidemiological/clinical traits such as vector infectivity, vector-to-mammal transmissibility, susceptibility to drugs and parasitemia. In this framework, methods able to assign the *T. cruzi* infecting strain type directly in blood samples are expected to have a positive effect on both parasite epidemiologic surveillance and clinical management of Chagasic patients. Serological typing assays that exploit the presence of strain-specific antibody signatures to polymorphic *T. cruzi* antigens emerge as an appealing approach to address this issue. TSSA (Trypomastigote small surface antigen) was originally identified as yet another parasite antigen, this one encoded by an apparently single-copy, mucin-like gene expressed by bloodstream trypomastigote forms. Sequencing of TSSA alleles from different strains, however, revealed several polymorphisms that defined 4 main protein variants, each one corresponding to an ancestral DTU (TcI to TcIV). Interestingly, TSSA variants were shown to display major antigenic differences, hence pointing to this molecule as a promising *T. cruzi* serotyping candidate. Indeed, epidemiological and clinical surveys conducted so far have shown that, despite certain aspects that need to be improved, TSSA is able to provide robust, sensitive, low-cost, and point-of-sampling diagnosis, with near DTU-level resolution. The advent of high-quality parasite genomes showed a larger-than-expected complexity of TSSA sequences. In addition to variations in TSSA gene dosage among *T. cruzi* strains, our recent genome mining exercises revealed the presence of TSSA pseudogenes and two TSSA hemizygous loci in hybrid DTUs (TcV and TcVI). Most relevant, they allowed the identification of several novel TSSA variants and also one TSSA sequence from the phylogenetically related bat parasite *T. cruzi marinkellei*. Despite its evident genetic drift, this molecule shared quite similar structural features with *T. cruzi* TSSAs, thus raising doubts about its evolutionary origin and distribution and, most importantly, warranting further investigations on the diagnostic impact of such atypical variants. Overall, our data shed new light into TSSA evolution, diversity and antigenic landscape, and contribute to improve the design, resolution and specificity of Chagas Disease diagnostic applications, and particularly of *T. cruzi* serotyping strategies.

## S6.4 Estrategias para el manejo de la estrogiloidosis: Desde el paciente al laboratorio.

**Repetto S, Quarroz J, Risso M, Batalla E, López C, Alba Soto C, González Capa SM, Ruybal P**

Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPm), UBA-CONICET, Facultad de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico de contacto: silvia\_repetto@yahoo.com.ar

*Strongyloides stercoralis* es un nematode intestinal endémico en el norte de Argentina. Buenos Aires recibe pacientes migrantes de las áreas endémicas con infección crónica donde el subdiagnóstico constituye el principal problema.

La estrogiloidosis presenta dos aspectos relevantes en la práctica clínica: el paciente inmunocomprometido y la eosinofilia sin diagnóstico parasitológico, situaciones en las que se requiere información clínico-epidemiológica, el diagnóstico precoz y el seguimiento.

Para optimizar el diagnóstico, estandarizamos el cultivo en agar nutritivo (CAN) con 90% de sensibilidad (S) y 91% de especificidad (E) y la PCR convencional (cPCR, detecta 0.01 larvas/g mf) con una S de 85.8% y una E de 100%. Asimismo, la cPCR se adelantó al diagnóstico convencional en 4 semanas, permitiendo la detección precoz de la parasitosis, en especial en los inmunocomprometidos.

Durante 2005-2019 se evaluaron 657 pacientes y a 132 de ellos (20.09%) se les detectó *S. stercoralis*. De los infectados el 57.6% eran hombres, con una media de edad de 47.0 (SD±16) años y oriundos de Argentina (79), Paraguay (27), Bolivia (13), Perú (5) y Venezuela (3).

Cuarenta (30.3%) fueron diagnosticados por visualización de larvas en el fresco de materia fecal, 33 (25%) por el método de Ritchie y 76 (57.58%) por el CAN. La PCR fue positiva en los 132 pacientes.

Se realizó diagnóstico solo por cPCR en 48.7% de los 76 pacientes con eosinofilia asintomática y en 38.6% de los 88 inmunocomprometidos. La observación de larvas en el fresco y el estado de inmunosupresión se asociaron al desarrollo de infección severa (OR 3.7; IC 95% 1.3-10.0-OR 12.5; IC 95% 1.64-99.4; p<0.001, respectivamente).

En todos los pacientes la cPCR persistió positiva luego del tratamiento y observamos eventos de reactivación de la enfermedad (clínica y/o parasitológica) en pacientes que no retornaron a zona endémica.

Así, evaluamos la variabilidad genética del parásito y su posible asociación con características clínicas y evolución de la parasitosis. Para ello, analizamos una región de 404 pb del gen mitocondrial codificante para la citocromo c oxidasa subunidad 1 (*cox1*). En el análisis se incluyeron 41 pacientes, 29 con seguimiento a largo plazo y 14 (48.28%) con reactivación de la enfermedad. Se observaron 10 haplotipos agrupados en dos clusters (C1 y C2) asociados a dos haplotipos mayoritarios (HP24 y HP93, respectivamente).

Las infecciones con C1 presentaron mayor riesgo de reactivación (OR 7.51, IC 95% 1.38–44.29, p<0.01) ajustando por inmunocompromiso, sexo y edad. Sin embargo, la inmunosupresión no se asoció a la reactivación (OR 0.23, IC 95% 0.24-2.33, P=0.21).

Actualmente el seguimiento de los pacientes se realiza en conjunto con los datos clínicos, los métodos directos habituales (especialmente CAN) y la tipificación molecular. El conocimiento de la interacción hospedero parásito nos permitirá desarrollar métodos más precisos para el manejo de la estrogiloidosis.

## Simposio 7: Respuesta Inmune e Infecciones parasitarias

### S7.1 Estudio de fenofibrato como modulador de la respuesta pro-inflamatoria y pro-fibrótica en fibroblastos, miocardiocitos y monocitos en la infección con *T. cruzi*.

Sequeyra A<sup>1</sup>, Poncini C<sup>2</sup>, Cevey A<sup>1</sup>, Peralisi A<sup>1</sup>, Mirkin G<sup>2</sup>, Goren N<sup>1</sup>, Penas F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA, UBA-CONICET. Facultad de Medicina-Universidad de Buenos Aires. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, UBA-CONICET. Facultad de Medicina-Universidad de Buenos Aires.

Correo electrónico de contacto: federicopenas@hotmail.com

En la miocardiopatía chagásica, la persistencia parasitaria contribuye a la inflamación crónica, fenómeno que conlleva a fibrosis e insuficiencia cardíaca. Los fibroblastos (fb) son células que forman parte del tejido cardíaco. Cuando se activan, se diferencian a miofibroblastos y participan de manera activa en la fibrosis cardíaca. Los PPAR son receptores nucleares que se expresan en corazón y otros órganos. Previamente, demostramos que el fenofibrato (fen), ligando PPAR $\alpha$ , es capaz de restaurar la función cardíaca, previniendo la fibrosis y reduciendo la expresión de mediadores inflamatorios en un modelo de Chagas experimental.

Considerando estos antecedentes, nos propusimos estudiar la interacción entre miocardiocitos (mc) y fb murinos neonatales infectados con *T. cruzi* (*Tc*) y evaluar el efecto de fen sobre la respuesta inflamatoria y fibrótica de estas dos poblaciones celulares. Para ello caracterizamos los cultivos primarios de fb y mc a partir de la expresión de Troponina C y  $\alpha$ -SMA por western blot (wb). Además, estudiamos la expresión de enzimas pro-inflamatorias y -fibróticas por qPCR y wb en mc y fb. Demostramos que *Tc* induce la expresión de iNOS y MMP9, CTGF, MMP2, TGF $\beta$ , TNF $\alpha$  e IL-6. Pudimos demostrar, en ambas estirpes celulares, que el tratamiento con fen inhibe la liberación y expresión de todos los mediadores analizados. Asimismo, fen inhibió la vía de NF- $\kappa$ B, en mc y fb, evaluado a través de la expresión de I $\kappa$ B $\alpha$  por wb. La interacción entre mc y fb fue estudiada a través de ensayos de medio condicionado (mcond). Evidenciamos que ambas poblaciones de células sin infectar responden frente al mcond de células infectadas y tratadas con fen, aumentando la expresión de Arginasa y disminuyendo la iNOS.

Además, y considerando que en el desarrollo de la patología cardíaca no solo participan fb y mc, sino que los monocitos infiltrantes también jugarían un papel relevante, nos planteamos estudiar el efecto de fen sobre el perfil de activación de monocitos presentes en el tejido cardíaco de ratones infectados con *Tc*. Mediante citometría de flujo, demostramos que el tratamiento *in vivo* con fen, indujo una disminución del infiltrado monocítico inflamatorio (CD11b+LY6C+F4/80+CD206<sup>-</sup>) y un aumento del perfil M2 (CD11b+LY6C+F4/80+CD206<sup>+</sup>) respecto a los animales infectados sin tratar. En conjunto, demostramos que fen puede inhibir la respuesta pro-inflamatoria y fibrótica en mc y fb infectados con *Tc*. Además, estos resultados enfatizan en la interacción de estos linajes celulares y la habilidad de fen de modularlos. Asimismo, comprobamos que el tratamiento *in vivo* con fen reduce el reclutamiento y modifica el perfil de monocitos en el miocardio de ratones infectados.

Estos hallazgos son la base de futuros estudios que contribuyan al conocimiento de la interacción de estas poblaciones celulares en la patología cardíaca y a establecer los efectos de fen sobre este proceso, a fin de promover una inmunoterapia cardiovascular coadyuvante al tratamiento antiparasitario clásico.

## S7.2 HSP90 de plantas: inmunomoduladores y adyuvantes en el diseño de vacunas contra coccidios

**Corigliano MG, Sander VA, Sánchez-López EF, Ramos-Duarte VA, Mendoza-Morales L, Clemente M**

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH, CONICET-UNSAM).

Correo electrónico de contacto: mclemente@intech.gov.ar, marinaclemente@hotmail.com

Actualmente existe una necesidad de desarrollar nuevos adyuvantes que sean seguros y no tóxicos, fundamentalmente para aquellas vacunas que requieren una fuerte respuesta inmune de tipo celular. Nuestro laboratorio demostró que las proteínas de choque térmico de 90-kDa (Hsp90) de plantas son capaces de estimular la proliferación de las células de bazo de ratones naïve y de unirse a receptores de manera específica. La Hsp90.3 de *Nicotiana benthamiana* (rNbHsp90.3) y la Hsp81.2 de *Arabidopsis thaliana* (rAtHsp81.2) mostraron ser capaces de producir una respuesta inmune pro-inflamatoria específica, fuerte y prolongada, contra diferentes antígenos ensayados. Utilizando la estrategia de proteína de fusión, desarrollamos y validamos una formulación de vacunas que incluye la proteína NbHsp90.3 covalentemente fusionada a un péptido de SAG1 que contiene epítopes de células T y B (TgSAG1<sub>HC</sub>). Los ratones inmunizados con rNbHsp90.3-TgSAG1<sub>HC</sub> mostraron una protección parcial contra la infección por *T. gondii* y se correlacionó con la inducción de una respuesta inmune de memoria. Asimismo, utilizando la estrategia de combinación chaperona + antígeno, estudiamos la capacidad adyuvante de la rAtHsp81.2 con el antígeno SAG1 de *N. caninum* (NcSAG1) utilizando un modelo de neosporosis congénita en ratón. La inmunización con la mezcla rNcSAG1 + rAtHsp81.2 aumentó la protección contra la transmisión vertical de la neosporosis en los ratones vacunados y mejoró el tiempo medio de supervivencia de la descendencia. Observamos que los ratones vacunados con rNcSAG1 + rAtHsp81.2 o sólo con rAtHsp81.2 producían altos títulos de IgG total anti-AtHsp81.2, sugiriendo que esta formulación permitiría diferenciar a los animales infectados de los vacunados o vacunados e infectados. Esta formulación podría servir de base para el desarrollo de un nuevo enfoque vacunal contra la neosporosis bovina. Además, en nuestro laboratorio evaluamos distintas estrategias de expresión heteróloga basadas en las plantas para optimizar su uso en la producción de antígenos vacunales. Evaluamos la capacidad inmunoprotectora de los extractos de tabaco expresando la proteína de fusión AtHsp81.2-TgSAG1<sub>HC</sub> y de la proteína de fusión purificada a partir de los extractos vegetales mediante inmunizaciones orales. Sólo los ratones inmunizados oralmente con los extractos vegetales expresando la proteína AtHsp81.2-TgSAG1<sub>HC</sub> indujeron una respuesta humoral con incremento significativo de los isotipos IgG2a/b anti-TgSAG1<sub>HC</sub>. La expresión vegetal de un antígeno de *T. gondii* fusionado a la HSP90 de plantas como formulaciones mejora la eficacia de la vacuna. El extracto vegetal podría usarse directamente sin la necesidad de purificar la proteína, haciendo esta plataforma un sistema biotecnológico adecuado y potente para la expresión de antígenos inmunogénicos.

### S7.3 Relevancia de los receptores *scavenger* CD5 y CD6 en la hidatidosis experimental murina.

**Mourglia-Ettlin G<sup>1</sup>, García-Luna J<sup>1</sup>, Miles S<sup>1</sup>, González-Porcile C<sup>1</sup>, Velasco-de-Andrés M<sup>2</sup>, Dematteis S<sup>1</sup>, Lozano F<sup>2,3,4</sup>**

<sup>1</sup>Área Inmunología - Departamento de Biociencias - Facultad de Química, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona, España. <sup>3</sup>Servei d'Immunologia, Centre de Diagnòstic Biomèdic (CDB), Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona, España. <sup>4</sup>Departament de Biomedicina, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona. Barcelona, España.

Correo electrónico de contacto: gmourglia@higiene.edu.uy

Los receptores *scavenger* (RS) están involucrados en el reconocimiento de moléculas endógenas y/o exógenas de carácter polianiónico. Entre ellos, la superfamilia de RS ricos en cisteína (SF-RSRC) está compuesta por más de 30 miembros, algunos de los cuales son capaces de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). De estos, destacan CD5 y CD6, los cuales son glicoproteínas de membrana que presentan gran homología estructural y funcional, así como similitudes en sus perfiles de expresión. Ambos receptores poseen ectodominios compuestos exclusivamente por 3 dominios SRCR en tándem, una región transmembrana y una cola citoplasmática capaz de mediar procesos de señalización intracelular. Asimismo, CD5 y CD6 se expresan principalmente en ciertas poblaciones linfocitarias, estando físicamente asociados al TCR o al BCR, según corresponda. En cuanto a su capacidad de detectar PAMPs, los ectodominios de CD5 y CD6 interactúan en forma directa con ligandos microbianos. Así, CD5 (pero no CD6) interactúa con motivos  $\beta$ -glucanos de hongos; mientras que CD6 (pero no CD5) une componentes de la pared de bacterias Gram (-) y (+). La relevancia práctica de reconocer antígenos microbianos quedó evidenciada luego de observar que la administración de las formas recombinantes solubles de los ectodominios de CD5 o CD6 humanos (denominados rshCD5 y rshCD6, respectivamente) tiene efectos beneficiosos en diversos modelos murinos de infección y sepsis. Por ello, y dado el amplio espectro de ligandos reconocidos por CD5 y CD6, nuestro grupo demostró que ambos receptores son capaces de reconocer también componentes antigénicos de parásitos helmintos. En particular, trabajamos con el cestodo *Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.), agente etiológico de la hidatidosis o equinococosis quística (EQ) humana. Estos resultados son en sí mismos relevantes, ya que son escasos los reportes sobre receptores innatos capaces de reconocer antígenos parasitarios. Además, nuestro grupo demostró también que tanto rshCD5 como rshCD6 muestran funciones profilácticas en un modelo murino de EQ, ya que su infusión pre-infección redujo la proporción de ratones infectados, así como el número de quistes hidáticos desarrollados y la carga parasitaria total por ratón. Desde un punto de vista mecanístico, estos efectos profilácticos podrían atribuirse a una inmunomodulación inducida mediante el bloqueo de componentes parasitarios clave presentes en el tegumento parasitario. En este sentido, mediante estudios proteómicos de interactomas, logramos identificar posibles ligandos parasitarios para rshCD5 y/o rshCD6, muchos de los cuales fueron previamente reportados como importantes objetivos terapéuticos contra *E. granulosus*



s.l., ya sea como candidatos vacunales o como blancos farmacológicos. En la presente exposición mostraremos resultados recientes y complementarios que apoyarían la relevancia de los RS CD5 y CD6 en la interacción hospedero-parásito.

## SIMPOSIO 8: Interacción parásito-célula hospedadora

### S8.1 Role of bioenergetics and biosynthetic pathways in *Trypanosoma cruzi* virulence.

#### González J

Molecular Parasitology Unit. Medical Technology Department, University of Antofagasta, Antofagasta, Chile.

*Trypanosoma cruzi* is the causative agent of Chagas disease. The parasite molecular repertoire modulates its virulence and impact the clinical course of infection and disease. In this study, two aliquots from *T. cruzi* clone H510 C8C3 were cultivated in a different way for thirty years, generating a high virulent cell line C8C3 $hvir$  and other low virulence named C8C3 $lvir$ .

Mice and rat neonatal cardiomyocytes cultures were infected with tissue culture-derived trypomastigotes from C8C3 $hvir$  or C8C3 $lvir$  *T. cruzi* cell lines and their infectivity was evaluated. The parasitic load in infected mice organs was evaluated by qPCR and expression of cruzipain, complement regulating protein, trans-sialidase, Tc85 and sialylated epitopes, were analyzed through immunoblots of extracts of C8C3 $hvir$  and C8C3 $lvir$  trypomastigotes. Finally, proteomes of both *T. cruzi* cell lines were compared using LC-MS/MS.

The high virulent cell line (C8C3 $hvir$ ) was highly infective and lethal to BALB/c mice and three up to five times more infective for rats neonatal cardiomyocytes than low virulence cell line (C8C3 $lvir$ ). Studies of qPCR in organs of C8C3 $hvir$  and C8C3 $lvir$  infected mice, showed higher parasite load in all organs of mice infected with C8C3 $hvir$ . However, heart and skeletal muscle were the tissues that presented the largest parasite load. The immunoblots showed that the C8C3 $hvir$  cell line expressed higher levels of cruzipain, complement regulatory protein, trans-sialidase, Tc85 and sialylated epitopes.

Analysis by LC-MS/MS, showed a total of 1547 proteins, of which 387 displayed differential expression in C8C3 $hvir$  with respect to C8C3 $lvir$ . Among these, 174 were positively regulated while 216 were negatively regulated. Principal component analysis of the positively regulated proteins showed that proteins for dissemination or transmission of organisms from other organisms (within biological processes), ribosomal proteins (within cellular components) and succinyltransferase activity (within molecular functions) were the most overexpressed. MetaCyc and KEGG analysis, shown that thymine degradation, anaerobic respiration and TCA cycle III (animal) were upregulated whereas Pfam domains study reported redoxin as the more upregulated protein.

It is concluded that the C8C3 $hvir$  cell line not only differentially expresses some virulence factors with respect to the C8C3 $lvir$  line, but also appears to upregulated the expression of TCA enzymes, ribosomes and redoxins, all of which, beyond the expression of a single virulence factor, are part of a genetic program designed to survive in the host and eventually cause damage.



## S8.2 Invasión y retirada: caracterización de nuevas proteínas que utiliza *Babesia spp.* en su batalla contra el hospedador.

**Montenegro V, Paoletta M, Wilkowsky S**

Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA-CONICET, De los Reseros y N. Repetto s/n, 1688, Hurlingham, Argentina.

Correo electrónico de contacto: wilkowsky.silvina@inta.gob.ar

*Babesia bovis* y *B. bigemina* son parásitos apicomplejos transmitidos por garrapatas que afectan el ganado bovino en zonas tropicales y subtropicales del mundo. La identificación y caracterización de proteínas involucradas en la invasión y egreso del parásito al glóbulo rojo representan el primer paso para el diseño racional de vacunas más seguras que reemplacen el uso actual de cepas atenuadas.

En nuestro grupo identificamos 2 familias de proteínas con roles clave en otros miembros de Apicomplexa pero que aún no habían sido descritas en las dos especies de *Babesia*.

A través de una búsqueda en el genoma de *B. bovis*, identificamos una familia de 6 proteínas similares a la perforina (BboPLP1-6) implicadas en la formación de poros y el daño a los glóbulos rojos. El miembro con mayor expresión en el estadio intraeritrocitario y con expresión diferencial en cepas virulentas resultó ser BboPLP1, cuyo dominio lítico predicho *in silico* posee una alta homología con el componente C6 del complemento humano.

Utilizando el dominio lítico de BboPLP1 recombinante y ensayos de hemólisis confirmamos la función lítica de esta proteína. BboPLP1 posee además epitopes B reconocidos por anticuerpos de bovinos infectados. También generamos una cepa de *B. bovis* knock-out para BboPLP1 la cual tuvo una menor tasa de crecimiento y un fenotipo peculiar de múltiples parásitos dentro de un solo eritrocito lo que sugiere que la falta de PLP1 tiene un impacto negativo en la multiplicación y/o salida del parásito.

Por su parte, la familia de proteínas TRAP se ha descrito como un posible candidato a vacuna en varios parásitos apicomplejos incluyendo *Plasmodium* por su rol en las etapas iniciales de la invasión parasitaria. Mediante una búsqueda bioinformática en el genoma de *Babesia bigemina* identificamos 3 miembros de la familia TRAP (BbiTRAP-1-3). Todas son proteínas transmembrana de tipo 1 que contienen los dominios típicos tipo A de von Willebrand, trombospondina tipo 1 y citoplásmicos C-terminales. La estructura predicha de BbiTRAP-1 también contiene un sitio de adhesión dependiente de iones metálicos para la interacción con la célula hospedadora. Llamativamente la secuencia nucleotídica de BbiTRAP-1 contiene un número variable de unidades repetitivas en tándem que resultó útil como marcador molecular entre distintas cepas. Los análisis por Western blot e inmunofluorescencia indirecta confirmaron la expresión de BbiTRAP-1 en estadios sanguíneos. Los anticuerpos bovinos anti-BbiTRAP-1 recombinante fueron capaces de inhibir significativamente la invasión de merozoitos *in vitro*, lo que demuestra la presencia de epitopes B sensibles a la neutralización en dicha proteína.

En síntesis, a través de una combinación de análisis bioinformáticos, inmunológicos y funcionales hemos caracterizado nuevas proteínas en *B. bovis* y *B. bigemina* con roles diversos en la interacción con el bovino y con potencial para ser incluidas en futuras vacunas candidatas.



### **S8.3 Distribución de proteínas de membrana ancladas por GPI en *Trypanosoma cruzi*.**

#### **Mucci J**

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico de contacto: [jmucci@unsam.edu.ar](mailto:jmucci@unsam.edu.ar)

*Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, una de las parasitosis más distribuidas en el continente americano. Se estima en cerca de 8 millones las personas infectadas y en 100 millones las que se encuentran en riesgo de contraerla. Al igual que numerosos tripanosomátidos, *T. cruzi* posee en la membrana plasmática un alto porcentaje de glicoproteínas ancladas por glicosilfosfatidilinositol (GPI). Entre ellas se encuentran las *trans*-sialidasas (TS) y las mucinas. La TS es una enzima capaz de transferir un residuo sialilo entre glicoconjugados, permitiendo así la sialidación de la cubierta proteica del parásito. Esta proteína se encuentra en la membrana plasmática del estadio tripomastigote y es liberada al medio, donde actúa sobre el sistema inmune, plaquetas y glóbulos rojos. Por otro lado, las mucinas son proteínas que están altamente *O*-glicosiladas y son los principales aceptores de ácido siálico transferido por la TS. Estas proteínas son de vital importancia para la supervivencia del parásito ya que permiten la interacción con la célula hospedadora. En estos últimos años mediante microscopía confocal, distintas técnicas de superresolución y microscopía electrónica, pudimos demostrar que en la membrana plasmática del parásito tanto la TS como las mucinas se ordenan en distintos dominios estables de alrededor de 100 nm y que son liberadas al medio en microvesículas. Además, pudimos observar que estos dominios poseen diferentes características fisicoquímicas ya que las mucinas se encuentran en estructuras tipo *lipid-raft* mientras que la TS no. Ambas proteínas están ancladas por GPI, sin embargo, la señal de adición del ancla es distinta en cada familia. Utilizando distintos acercamientos como el uso de genes quiméricos o utilizando GFP como core proteico pudimos demostrar que la señal de anclaje por GPI es importante para la correcta disposición de cada proteína en la membrana plasmática del parásito.

## SIMPOSIO 9: Refinamiento en experimentación con animales y herramientas para mejorar la reproductibilidad y transferencia a estudios clínicos (AACYTAL)

### S9.1 Modelos animales en el estudio de Leishmaniasis y sus parámetros para el punto final humanitario.

**Ginevro PM, Cargnelutti DE**

IMBECU CCT CONICET Mendoza. Argentina

Correo electrónico de contacto: [pginevro@mendoza-conicet.gob.ar](mailto:pginevro@mendoza-conicet.gob.ar), [dcargnelutti@mendoza-conicet-gob.ar](mailto:dcargnelutti@mendoza-conicet-gob.ar)

La leishmaniasis comprende un grupo de enfermedades zoonóticas parasitarias causadas por protozoos intracelulares del género *Leishmania*. A pesar de ser un problema de salud pública a nivel mundial, siendo endémica en 98 países con más de 350 millones de personas en riesgo, es considerada una enfermedad desatendida, debido a la ausencia de control en los programas de salud. Por lo anteriormente mencionado, resulta necesario abordar desde el sector académico dicha problemática, a fin de ampliar el conocimiento sobre su capacidad infectiva, patogenicidad, ciclo de transmisión, terapéutica y prevención a través de la I+D de vacunas. Muchos modelos experimentales tales como roedores, perros y primates han sido desarrollados para el estudio de leishmaniasis, cada uno con características específicas, sin embargo, ninguno reproduce la patología en humanos. La diversidad en los resultados podría deberse a que diferentes especies de parásitos están siendo examinadas, distintos tejidos han sido infectados y variedad de promastigotes han sido inoculados. Recientemente, se han propuesto nuevos enfoques con el fin de obtener datos más significativos sobre la respuesta inmune del huésped y la patogénesis, de tal forma que reproduzcan lo que ocurre en la enfermedad humana, sin dejar de lado el refinamiento en el uso de modelos animales, que nos permitan disminuir al mínimo el dolor y estrés. Se está impulsando el uso de saliva del insecto y menor número de parásitos en las infecciones, análisis *in silico* para la selección de moléculas terapéuticas o antígenos vacunales. Adicionalmente, se ha propuesto el uso de roedores silvestres como modelos experimentales, tanto para el estudio de la relación huésped-parásito como para probar nuevas vacunas. Considerando que la leishmaniasis es una enfermedad crónica, el parásito es muy agresivo y afecta la calidad de vida de los animales utilizados en protocolos, es que el refinamiento en su uso debe estar abocado al punto final humanitario, haciendo un correcto balance entre los beneficios de obtener nuevos conocimientos versus la afectación de los animales experimentales. Por ello, el criterio para el seguimiento de los mismos deberá ser cuidadosamente evaluado, de manera sistemática y diaria a partir de la inoculación de los parásitos. Un correcto *Check List* de todos los signos asociados a estrés y dolor crónicos deberán tenerse en cuenta desde el inicio del protocolo, considerando alteraciones en peso, condición corporal, movilidad voluntaria y en respuesta a estímulos, deposiciones, signos de dolor y tipo de respiración en la decisión del punto final humanitario. Y especialmente en el caso de leishmaniasis cutánea considerar el tipo de tumor y sus dimensiones según criterios del NIH publicados. Finalmente, será fundamental contar con la aprobación del CICUAL, quien asesorará y controlará el trabajo llevado a cabo por el/los investigador/es, a fin de asegurar el bienestar de los animales y minimizar el estrés.

## S9.2 Puesta a punto de un *Alimentador Artificial* para alimentar insectos hematófagos.

Asenjo F<sup>1</sup>, Harburguer L<sup>1</sup>, González P<sup>1</sup>, Vassena C<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNIDEF-CITEDEF-CONICET-CIPEIN; <sup>2</sup>UNIDEF-CITEDEF-CONICET-CIPEIN-3IA UNSAM

Desde hace más de 40 años el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN) trabaja en el desarrollo de herramientas de control de insectos plaga con bajo impacto ambiental y una alta seguridad para la salud humana.

Los principales insectos hematófagos objeto de nuestros estudios son: la vinchuca (*Triatoma infestans*), vector del *Tripanosoma cruzi*, agente causal del Mal de Chagas, y *Aedes aegypti* (Mosquito), transmisor de virus causantes de enfermedades como Dengue, Zika y Chikungunya. También estudiamos otros insectos hematófagos de importancia endémica: la chinche de cama (*Cimex lectularius*) y el piojo de la cabeza (*Pediculus humanus capitis*). El estudio de estos insectos requiere contar en el laboratorio con número importante de individuos para lo cual a los mismos se los alimenta utilizando aves (principalmente palomas y gallinas).

La Ley de Protección animal (1966) que regula el tratamiento y bienestar de animales; y en el encuentro del Centro Europeo para la Validación de Métodos Alternativos (1993) se decidió la implementación de “las 3 R”: *Reemplazo* (de los animales de laboratorio por medios alternativos), *Reducción* (al mínimo de los animales utilizados) y *Refinamiento* (métodos para disminuir el estrés de los animales de laboratorio).

Con el compromiso de nuestro laboratorio en “las 3 R”, decidimos la adquisición de un alimentador artificial (marca Hemotec<sup>®</sup>) para la alimentación y cría de nuestros insectos hematófagos.

Un primer objetivo fue evaluar las temperaturas óptimas a la cual cada especie de insecto es atraída. Observamos que la temperatura del alimentador artificial afecta el tiempo de picado de los insectos rastreros *Triatoma infestans* y *Cimex lectularius*. Se rellenó el alimentador solo con una solución fisiológica y se fueron variando las temperaturas. Los primeros resultados obtenidos indicaron que las ninfas V y adultos de vinchucas responden a los pocos segundos y tratan de picar la membrana a una T de 40°C. Luego a medida que se disminuye la temperatura se acercan a la membrana, pero no intentan picar. Para las chinches (*Cimex lectularius*) se observa una tendencia similar, pero responden mucho más rápidamente. Cuando se estudió este efecto sobre insectos voladores, en particular el mosquito *Aedes aegypti*, se observó que prácticamente no respondían a 30°C y para temperaturas de 35 y 40°C presentaron respuestas tan diferentes como intentar picar en 20 segundos o tardar más de 7 minutos. Esto indicaría que para las especies que no son hematófagas obligatorias como en este caso y que no viven en contacto directo con su huésped, habría otras señales que influirían en el comportamiento de la búsqueda de sangre además del calor, como las señales olfativas. Como segunda parte de este trabajo, se reemplazó la solución fisiológica por sangre utilizando las temperaturas óptimas ya evaluadas. Se evaluó el efecto sobre la tasa de supervivencia de las chinches y las hembras de mosquitos, demostrando una gran variabilidad dentro y entre las dos especies evaluadas. Los resultados muestran que los insectos hematófagos estudiados responden al uso del alimentador artificial, y que luego es posible utilizar el Hemotec<sup>®</sup> para realizar su crianza de acuerdo con los estándares internacionales.

Grandes desafíos tenemos por delante, ya que es necesario evaluar la fertilidad y viabilidad de la descendencia de los insectos alimentados artificialmente y posteriormente determinar las respectivas tablas de vida. Necesitamos dilucidar si es conveniente utilizar sangre heparinizada o desfibrinada. De qué forma se pueden reducir los grandes costos que significa alimentar de



esta manera. La continuidad de este proyecto tiene como objetivo principal estudiar todos estos efectos con el compromiso de criar insectos acordes a los estándares internacionales con los comités de ética exigidos por las revistas científicas y la de manera de implementar de la mejor forma las “3 R”.

### S9.3 Aspectos claves en el llenado de los protocolos del CICUAL aplicado a ensayos protozoarios y otros patógenos.

**Pinto GB<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Área de Genética de la Facultad de Ciencias Veterinarias UBA. <sup>2</sup> Instituto de Virología del CICVyA – INTA  
Correo electrónico de contacto: gpinto@fvvet.uba.ar; pinto.gabriel@inta.gob.ar

El objetivo principal del CICUAL/CICUAE (Comité Institucional para el cuidado y uso de animales de laboratorio / experimentación) es apoyar y promover el uso racional y humanitario de los animales empleados en investigación basándose en el principio de las 3Rs (Reducción, Refinamiento y Reemplazo). Es su función garantizar el bienestar animal en los procedimientos mediante el compromiso de la comunidad científica para el respeto de los principios de bioética. Todo protocolo que emplee animales para investigación, docencia universitaria o formación profesional para el ejercicio de actividades relacionadas con la investigación debe ser presentado ante el CICUAL/CICUAE correspondiente. Allí evalúan aspectos relacionados con la adopción de buenas prácticas de bienestar animal, basadas en la prevención y el tratamiento de enfermedades; en la prevención y atenuación del dolor, el sufrimiento y otros estados negativos que puedan ocurrir, así como también, los procedimientos básicos de mantenimiento tales como la administración de agua y alimento y la posibilidad de brindar las condiciones de alojamiento que satisfagan las necesidades orgánicas y comportamentales de los mismos. Asimismo, deben tenerse en cuenta los puntos finales humanitarios, es decir, aquellos indicadores tempranos de dolor o distrés que, independientemente de los objetivos científicos del estudio (puntos finales experimentales), deban tenerse en cuenta para tomar acciones que eviten o reduzcan dicho dolor o distrés, ya sea mediante tratamiento farmacológicos, el retiro del estudio o, en último caso, indicar la eutanasia con métodos aceptados y compatibles con los objetivos experimentales. Otro punto que es evaluado es la calidad del diseño experimental y el tamaño muestral. La variabilidad de las respuestas presentadas por los animales de laboratorio puede deberse a factores genéticos y/o ambientales que, si no son controlados correctamente en el diseño experimental, pueden introducir vicios que invaliden las conclusiones. Varias encuestas realizadas sobre trabajos publicados en prestigiosas revistas internacionales, indicaron que más de la mitad de ellos adolecen de deficiencias relacionadas con metodología estadística o utilizan un número inadecuado de animales. Esto da lugar a dudar sobre las conclusiones y a cuestionamientos éticos.

En este seminario se expondrán algunos de los puntos más importantes a tener en cuenta al momento de la presentación de un protocolo de investigación que involucre animales, aplicado a ensayos realizados con protozoarios y otros patógenos, con el objetivo de orientar y capacitar a los investigadores y usuarios para llevar a cabo sus protocolos de trabajo con los más altos estándares éticos y procedimientos aceptados, lo que redundará en resultados robustos y reproducibles, mejorando la transferencia a estudios clínicos.



## RESÚMENES DE COMUNICACIONES ORALES

## COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO I: Avances en el tratamiento de enfermedades parasitarias

### COP-094

#### HDAC8 y SIRT2: Nuevas alternativas para el desarrollo inhibidores selectivos para el tratamiento de enfermedades desatendidas causadas por cestodos.

**Vaca HR<sup>1</sup>, Celentano AM<sup>1</sup>, Cevasco P<sup>1</sup>, Elissondo C<sup>2</sup>, Camicia F<sup>3</sup>, Rosenzvit MC<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>IMPAM-UBA-CONICET, CABA, Argentina. <sup>2</sup>IIPROSAM-CONICET, UNMDP, Mar del Plata, Argentina.

<sup>3</sup>Centro de Patología Experimental y Aplicada, FMED-UBA, CABA, Argentina

#### Resumen

El tratamiento farmacológico de cestodiasis, como la equinococosis y la cisticercosis, se basa en un pequeño número de drogas antihelmínticas aprobadas, que no son bien toleradas o son solo parcialmente efectivas. Por ello, la evaluación de nuevos blancos farmacológicos resulta fundamental. En este trabajo, evaluamos el potencial como blancos de drogas de las histonas deacetilasas (HDACs) y las sirtuinas (SIRTs), ambas enzimas modificadoras de histonas involucradas en mecanismos epigenéticos y otros procesos celulares. Estas enzimas se identificaron en los genomas de varios cestodos y se demostró su expresión en diferentes estadios de *Echinococcus*, siendo la HDAC8 y la SIRT2 las más expresadas. Para la HDAC8, su secuencia se confirmó mediante RT-PCR, clonado y secuenciación en *Echinococcus* y *Mesocestoides vogae*. Mediante modelado por homología, se observó que la HDAC8 y la SIRT2 de cestodos presentan una alta conservación de las estructuras canónicas respectivas. Estas enzimas no mostraron mutaciones en los residuos implicados en la unión a iones, cofactores e inhibidores conocidos de las mismas. Sin embargo, se observaron mutaciones en los residuos de bolsillos selectivos, y características estructurales particulares ausentes en sus ortólogos en *Homo sapiens*. Estas diferencias representan un punto prometedor para el desarrollo de inhibidores selectivos de estas enzimas. Mediante la plataforma de alto rendimiento *worm tracker* se determinó el efecto antihelmíntico en *M. vogae* de varios inhibidores selectivos recientemente desarrollados para la HDAC8 y la SIRT2 de *H. sapiens* o *Schistosoma mansoni*. Varios inhibidores mostraron una potente e irreversible actividad cestocida, produciendo un extenso daño morfológico, observado mediante microscopía electrónica de barrido. Estos resultados proporcionan la base para comprender el rol de enzimas modificadoras de histonas en cestodos a fin de contribuir al tratamiento de enfermedades desatendidas causadas por estos parásitos.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster

#### Categorías

3 - Diagnóstico y Tratamiento

**COP-005****Evaluación de un tratamiento mixto de vacuna terapéutica y benznidazol en dos modelos murinos de infección crónica por *Trypanosoma cruzi*.****Prochetto E<sup>1</sup>, Cacik P<sup>2</sup>, Bontempi I<sup>1,3</sup>, Rodeles L<sup>1</sup>, Cabrera G<sup>1,3</sup>, Pérez Gianceselli M<sup>4</sup>, Pacini MF<sup>5</sup>, Perez AR<sup>6</sup>, Marcipar I<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, FBCB, UNL, Santa fe, Argentina. <sup>2</sup>FCM, UNL, Santa Fe, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, FBCB, UNL, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>FCM, UNL, Santa Fe, Argentina. <sup>5</sup>CONICET, Santa Fe, Argentina. <sup>6</sup>Cátedra de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Corrientes, Argentina. <sup>7</sup>4IDICER-CONICET, Rosario, Argentina. <sup>8</sup>IDICER-CONICET, Rosario, Argentina

**Resumen**

En la actualidad no existe un tratamiento efectivo para la fase crónica de la enfermedad de Chagas por lo que nuevos enfoques terapéuticos son necesarios. En el presente trabajo se evaluó la utilidad terapéutica de una formulación vacunal basada en un fragmento TSNT de la proteína Trans-sialidasa formulado con el adyuvante de producción propia ISPA (TSNT-ISPA). Además, se ensayó un tratamiento mixto de vacuna terapéutica más Bz (TSNT-ISPA+Bz) comparándolo con un tratamiento solo basado en benznidazol (Bz). Se trabajaron con dos modelos de infección crónica, en los cuales se emplearon ratones hembra BALB/c infectados con la cepa no virulenta Sylvio X10/4 de *T. cruzi* y, alternativamente, con la cepa de mayor virulencia Tulahuen cl2. Los ratones se infectaron al iniciar el experimento y al día 120 post infección (pi) se comenzaron con los distintos tratamientos: TSNT-ISPA (vacuna sola), Bz (parasiticida solo) y tratamiento mixto TSNT-ISPA+Bz. Un grupo de ratones no recibió tratamiento alguno (grupo control PBS). La formulación TSNT-ISPA se administró en tres dosis subcutáneas, a los días 120, 130 y 140 pi, inoculando 10 ug de TSNT más 3 ul de ISPA. El tratamiento con Bz se aplicó durante 30 días consecutivos en una dosis de 100 mg/kg/día por vía oral, desde el día 140 al día 170 pi. Al día 273 pi se realizó un electrocardiograma (ECG) a cada ratón, se evaluó la carga parasitaria y la histología en corazón. En ambos modelos la vacuna terapéutica TSNT-ISPA disminuyó las alteraciones halladas en los ECG y el daño en corazón, así como también la carga parasitaria en dicho órgano. El tratamiento mixto también redujo la carga parasitaria en corazón y permitió la reducción completa de las alteraciones halladas en los ECG. La adición de Bz al esquema de tratamiento crónico mejoró los resultados en relación a los tratamientos individuales, Bz y vacuna sola, en el modelo crónico de infección BALB/c-Tulahuen cl2.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.



## COP-101

### Revisión sistemática y valoración del riesgo de sesgo en la evaluación de la eficacia del posaconazol en modelos animales de infección con *Trypanosoma cruzi*.

**Bisio M<sup>1,2</sup>, Jurado Medina L<sup>3</sup>, García-Bournissen F<sup>4</sup>, Gulin E<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología (INP) 'Dr. Mario Fatała Chaben'-ANLIS 'Dr. Carlos G. Malbrán', Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP), CONICET-GCBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Division of Paediatric Clinical Pharmacology, Department of Paediatrics, Schulich School of Medicine & Dentistry, University of Western Ontario, London, Canada. <sup>5</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED), UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina

#### Resumen

Luego de resultados favorables en modelos *in vitro* e *in vivo*, el posaconazol (POS) fue evaluado en ensayos clínicos. Sin embargo, los pacientes tratados con POS presentaron fallas terapéuticas inesperadas. El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión sistemática (RS) de la eficacia de POS en modelos animales de infección con *Trypanosoma cruzi*. Se realizó una búsqueda bibliográfica en PubMed y Embase de artículos que evalúen la eficacia POS en modelos *in vivo* de infección experimental con *T. cruzi*, sin restricción de idioma, ni fecha de publicación. Para valorar el riesgo de sesgo se empleó la herramienta diseñada por SYRCLE. Se identificaron 16 artículos, los cuales describían 49 modelos animales (35 en fase aguda, 5 en fase aguda tardía y 9 en fase crónica) empleando en todos los casos a *Mus musculus*. La vía de infección más usual fue la intraperitoneal (94%) con cargas parasitarias de entre 3x10<sup>1</sup> a 1x10<sup>6</sup> utilizando en la mayoría de los casos las cepas Y (n=21) y CL (n=9). El esquema de tratamiento más empleado consistió en dosis de 20 mg/kg/día vía oral por 20 días. Las variables para determinar eficacia fueron parasitemia y mortalidad y como criterios de cura se emplearon técnicas combinadas (hemocultivo+serología+xenodiagnóstico (20%) y qPCR en sangre+reactivación de parasitemia post-inmunosupresión (19%)). Las dimensiones de selección y detección fueron las más influidas por el alto riesgo de sesgo. Esta revisión sugiere una alta heterogeneidad en las condiciones experimentales, en los criterios de cura y un alto riesgo de sesgo, dificultando la comparación entre ensayos, lo que podría explicar el fallo terapéutico de POS en ensayos clínicos. Esta RS sienta el precedente para continuar con un meta-análisis que permita determinar la eficacia global de POS, contribuyendo a la reducción del uso de animales de experimentación, y mejorando a su vez, la predictibilidad de los modelos *in vivo* y su transferencia a ensayos clínicos.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

**COP-013****Computational repositioning of bioactive compounds from large chemogenomic screens: identification of conserved druggable modules between yeasts and trypanosomes.****Didier Garnham MM, Urán Landaburu L, Agüero F**

IIB- UNSAM – CONICET, San Martín, Argentina

**Resumen**

Detailed characterization of the cellular response to chemicals is fundamental to understand the mechanism of action of drugs. One strategy to do this is to analyze the growth capacity (fitness) of gene mutants exposed to different drugs. Recently, a number of genome-wide fitness profiling assays were performed on *Saccharomyces cerevisiae*. These chemical-genomics screens were based on whole-genome collections of heterozygous and homozygous deletions and quantified the growth fitness of each strain in the presence of different chemicals, thus providing a rich source of pharmacogenomic associations between drugs and genes (“druggable modules”). In contrast, in trypanosomes, pharmacogenomic associations are scarce; hence yeast chemogenomic screens may serve as good starting points to guide repurposing opportunities for Chagas Disease. The aim of this project is the curation and standardization of yeast-based chemogenomic assays from published studies, and the development of an orthology mapping pipeline. From 5 published assays, we obtained 271.955 gene-drug interactions, with a set of 5.811 unique genes and 2.935 unique drugs. Further filters were applied to each set using this pipeline, to find conserved druggable modules between yeasts and *Trypanosoma cruzi*. For drugs, filters were applied to retain compounds that were drug-like, novel, commercially available, and with low potential promiscuity. For genes, we selected those that displayed significant fitness phenotypes when knocked down (in *Trypanosoma brucei*, through an orthology mapping between *T. cruzi* and the whole-genome RNAi essentiality assays described in Alford et al, 2011). After standardization and filtering we obtained a library of 174 compounds, associated with 66 candidate protein targets in *T. cruzi*. We purchased 22 of those compounds and assessed their antiparasitic activity in vitro to validate the strategy. With this approach we expect to find novel drug candidates to treat Chagas disease.

58

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

**COP-114****Evaluación de ensayos comerciales de PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular de la infección por *Trypanosoma cruzi*.****Ramírez JC<sup>1,2</sup>, Jurado L<sup>1,2</sup>, Fernández M<sup>3</sup>, Bangher M<sup>4</sup>, Ortiz L<sup>5</sup>, Torrico F<sup>5</sup>, Molina I<sup>6</sup>, Abril M<sup>7</sup>, Altcheh J<sup>1,2</sup>, Sosa-Estani S<sup>8</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Hospital de Niños “Dr. Ricardo Gutiérrez”, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatała Chaben”, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Instituto de Cardiología de Corrientes “Juana Francisca Cabral”, Corrientes, Argentina. <sup>5</sup>Fundación CEADES, Cochabamba, Bolivia, Plurinational State of. <sup>6</sup>Hospital Universitario Valle de Hebrón, Barcelona, Spain. <sup>7</sup>Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina. <sup>8</sup>Drugs for Neglected Diseases initiative, Rio de Janeiro, Brazil

**Resumen**

En los últimos años han sido desarrollados varios ensayos comerciales de PCR en tiempo real (qPCR) para el diagnóstico molecular de la infección por *T. cruzi*. Sin embargo, hasta la fecha no se han realizado estudios encaminados a comparar el rendimiento de las diferentes qPCRs disponibles. En este contexto, nos propusimos evaluar la sensibilidad y especificidad de los ensayos comerciales aprobados por la ANMAT para el diagnóstico molecular de la infección por *T. cruzi*. Se analizaron un total de 355 muestras de sangre de pacientes adultos (230) y pediátricos (92) de Argentina y Bolivia con la enfermedad de Chagas crónica, e individuos adultos (24) y menores (9) seronegativos para *T. cruzi*. La extracción de ADN se realizó por el método de columnas de Roche y se evaluaron los ensayos comerciales de qPCR de los laboratorios Altona (Alemania), CerTest (España) y Wiener (Argentina), junto con el método *in-house* de Duffy *et al.* (2013). Las cuatro qPCRs mostraron una mayor sensibilidad para el diagnóstico de la infección en muestras de pacientes pediátricos (78-80%) respecto a los adultos (36-51%) ( $p < 0,001$ ), mientras que su especificidad fue del 100% en ambos casos. En general, la sensibilidad de los ensayos comerciales fue ligeramente superior a la del método *in-house* ( $p > 0,05$ ) y se obtuvo un alto grado de acuerdo entre sus resultados; el ensayo de Wiener fue el que mostró una mayor sensibilidad y el de CerTest un mayor grado de acuerdo respecto a los resultados de la qPCR de Duffy *et al.* (2013). Los ensayos comerciales tuvieron una mayor tolerancia a la presencia de inhibidores de la PCR, presentando un menor número de muestras con valores fuera de rango para el control interno de amplificación en comparación con el método *in-house*. Los resultados de este trabajo respaldan la implementación del uso de ensayos comerciales para el diagnóstico molecular de la infección por *T. cruzi* y el monitoreo de la respuesta terapéutica en ensayos clínicos de la enfermedad de Chagas.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

## COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO 3: Epidemiología y vectores.

### COP-015

#### El impacto del covid en la lucha contra la malaria en Brasil.

**Teixeira JM<sup>1</sup>, de Figueiredo WLD<sup>1</sup>, de Leão JL<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Nilton Lins, Manaus, Brazil. <sup>2</sup>Secretaria de Estado de Saúde do Amazonas (SES), Manaus, Brazil

#### Resumen

En marzo de 2020, el director general de la Organización Mundial de la Salud (OMS), declaró la pandemia por la Covid-19. La OMS reconoce la malaria como una adversidad de salud pública. Cuatro protozoarios del género Plasmodium pueden causar esa enfermedad, la especie Plasmodium vivax es más predominante en las infecciones. El objetivo de ese trabajo es realizar un estudio, sobre el impacto del Covid-19 en la lucha contra la malaria en Brasil.

La metodología utilizada fue un estudio de cohorte retrospectivo acerca de investigación epidemiológica basada en el análisis de datos del Sistema Único de Salud de Brasil, comparando los casos confirmados entre los años 2019 a 2021.

La principal medida de combate y control de la malaria se basan en el diagnóstico precoz. El tratamiento debe ser eficaz y oportuno, tratando rápidamente a las personas que se someten a pruebas positivas y logrando tratarlo de manera rápida y efectiva para que pueda ser monitoreado y Posteriormente llevar a cabo el procedimiento llamado LVC- Lámina de Verificação de Cura, que es el examen de microscopía (gota gruesa y frotis). Según la OMS, debido a las restricciones del SARS-CoV-2, las muertes por malaria aumentaron en 2020. Siendo así, la enfermedad que estaba disminuyendo tuvo un aumento entre 2020 y 2021 de 168,42% de casos positivos durante la pandemia en Brasil. Todavía, debido a Covid-19, es posible que se haya producido un subregistro, y solo se verificaron los casos más graves.

Sin embargo, por la pandemia, se detuvo el control del vector, que son mosquitos del género Anopheles. Además, Amazonas es el estado brasileño con más casos positivos de malaria y fue el más afectado por Covid-19. Se deben tomar medidas públicas para que se reanude efectivamente el control de la malaria y que no se repitan situaciones impactantes en Brasil.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

4 - Epidemiología y Vectores.

## COP-001

### Aislamiento de amebas de vida libre en salas cerradas de un hospital provincial pediátrico.

**Tomassini L<sup>1,2,3</sup>, Costamagna RS<sup>4</sup>, Randazzo VR<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil Don Victorio Tetamanti, Mar del Plata, Argentina.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina. <sup>3</sup>Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. <sup>4</sup>Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

#### Resumen

**Introducción:** Las amebas de vida libre (AVL) son protozoos ubicuos, que tienen como nicho ecológico a los cuerpos de agua. Si bien existen 4 géneros patógenos para el ser humano, uno de ellos, *Acanthamoeba* sp, puede actuar de reservorio de diversos microorganismos, estableciendo relaciones endosimbióticas. En este contexto la presencia de AVL en el medio hospitalario implicaría un riesgo potencial para la perpetuación de diferentes gérmenes causantes de infecciones intranosocomiales.

**Objetivo:** Investigar la presencia de AVL, con énfasis en *Acanthamoeba* sp, en salas cerradas de un Hospital provincial pediátrico.

**Materiales y Métodos:** Desde enero a agosto de 2021 se recolectaron 16 muestras de hisopados de piletas (canillas y desagües) y 15 muestras de incubadores/humidificadores en salas de Neonatología y Terapia Intensiva de un Hospital pediátrico de la ciudad de Mar del Plata. Las muestras fueron sembradas en placas de Agar no nutritivo suplementado con *Escherichia coli* en solución de Page, incubadas en estufas a temperatura ambiente, 28, 37 y 42 °C. Se realizaron observaciones microscópicas e identificación en base a caracteres morfológicos de las especies halladas y la Pósterior identificación molecular de total de los aislados.

**Resultados:** En el 87% de los incubadores y en el 100% de las piletas se obtuvieron aislamientos de AVL, morfológicamente compatibles con *Acanthamoeba* sp. Las muestras incubadas a 42 °C resultaron negativas, descartándose la presencia de *Naegleria* sp. Respecto al análisis molecular, el 50% de los cultivos de las piletas y el 78% de los incubadores dieron positivo para *Acanthamoeba* sp.

**Conclusiones:** La presencia de AVL, y en particular de *Acanthamoeba* sp, resulta un blanco útil para investigar posibles reservorios de microorganismos patógenos en ambientes hospitalarios. La profundización en el tema proporciona una herramienta fundamental para la vigilancia epidemiológica y el control sanitario.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

4 - Epidemiología y Vectores.

## COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO 4: Actualizaciones parasitológicas en Argentina (APA).

### COP-115

#### Asociación entre *Fasciola hepatica* y parásitos intestinales en bovinos de la provincia de Mendoza.

**Neira G<sup>1,2</sup>, Scarcella S<sup>3,4</sup>, Godoy D<sup>1,5</sup>, Gonzalez M<sup>1</sup>, Mera y Sierra R<sup>1,6,7</sup>**

<sup>1</sup>CIPAR Umaza, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, MENDOZA, Argentina. <sup>3</sup>CIVETAN CONICET, Tandil, Argentina. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina. <sup>5</sup>CONICET, Mendoza, Argentina. <sup>6</sup>Facultad de Ciencias Médicas, UNCUYO, Mendoza, Argentina. <sup>7</sup>Laboratorio Mera, Mendoza, Argentina.

#### Resumen

La fascioliasis es una parasitosis cosmopolita, causada en América por *Fasciola hepatica*. Afecta principalmente a herbívoros, particularmente rumiantes, es también una importante zoonosis de distribución mundial. En Mendoza ha sido reportada con importantes prevalencias en herbívoros domésticos y silvestres. Son escasos los estudios sobre parasitosis intestinales que afecten a los bovinos en Mendoza y no se ha reportado cuales son las asociaciones parasitarias con *F. hepatica*, objetivo del presente estudio. Se tomaron muestras de materia fecal del recto de 645 bovinos de 12 establecimiento de la provincia de Mendoza, tanto de zonas de valles andinos 332 muestras, como de zonas de llanura 313 muestras. Se remitieron refrigeradas al laboratorio donde se realizaron las técnicas de flotación simple, técnica de Wisconsin (para cuantificar huevos y oocistos por gramo) y técnica de sedimentación rápida de Lumbrellas para investigación de presencia de huevos de *F. hepatica*. Se hallaron 326 (50,54%) animales positivos a algún parásito. Se diagnosticaron los siguientes parásitos: *Fasciola hepatica* (17,05%), estrongilidos (33,95%), *Toxocara vitulorum* (1,7%), *Trichuris* spp., *Moniezia* spp. *Nematodirus* spp. (0,15%), *Eimeria* spp. (10,23%). Referido a las asociaciones de *F. hepatica*, el 76,36% de los animales parasitados por el mismo era una mono-parasitosis, asociado a estrongilidos (16,36%), a *Eimeria* spp. (3,63%), a *Moniezia* (0,9%) a estrongilidos y *Eimeria* spp. (2,72%). A pesar de que el hallazgo de huevos estrongilidos fue lo más frecuente, las cargas parasitadas, inferidas por el hpg, fueron muy bajas con solo 4 animales con más de 100 hpg, por lo cual no será relevante ni clínica ni productivamente. Es llamativo que *F. hepatica* no se ha encontrado asociado a otros parásitos, lo cual probablemente se debe a la extrema resistencia y capacidad de este parásito de sobrevivir en zonas de climas áridos e inhóspitos, tal como el árido mendocino y zonas andinas.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

4 - Epidemiología y Vectores.

**COP-037****Posición filogenética de *Theileria cervi* detectada en *Blastocerus dichotomus* (Artiodactyla: Cervidae) de Argentina.****Sebastian P<sup>1</sup>, Falzone M<sup>2</sup>, Lois M<sup>2</sup>, Sartori R<sup>2</sup>, Zimmermann J<sup>2</sup>, Tarragona E<sup>1</sup>, Nava S<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IdlCaL) CONICET - INTA, Rafaela, Argentina. <sup>2</sup>Hospital Veterinario Bioparque Temaikèn (Fundación Temaikèn), Belén de Escobar, Argentina.**Resumen**

En el presente estudio se reporta la detección molecular de *Theileria cervi* en el ADN de un espécimen adulto de ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*), de una población natural de la Isla Talavera en el Delta del Paraná, Argentina. Además, se caracterizó la posición filogenética de *T. cervi* basada en secuencias del gen ADNr 18S en comparación con otras cepas del mismo microorganismo depositadas en GenBank. A partir de una muestra de sangre de un espécimen sintomático de *B. dichotomus*, se amplificó ADN del orden Piroplasmida por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se realizó un análisis filogenético de la secuencia del gen para el ADNr 18S obtenida y se observó la relación genética de la cepa argentina con cepas de *T. cervi* sensu stricto detectadas en otras especies de ciervos de América del Norte. Los resultados obtenidos en este estudio sumado a estudios anteriores, indican que este protozoo posee una baja especificidad de hospedador. Aunque la mayoría de las infecciones causadas por dicho microorganismo resultan asintomáticas o de curso leve, se debe considerar que existe una circulando de *T. cervi* en las poblaciones argentinas de *B. dichotomus*. Futuros estudios son necesarios para determinar su prevalencia, distribución e impacto en la salud de las poblaciones silvestres.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

4 - Epidemiología y Vectores.



## COP-109

### **Análisis detallado de los procesos de endoreplicación y fisión múltiple en el parásito *Tritrichomonas foetus*.**

**Iriarte L, Martínez C, de Miguel N, Coceres V**

INTECH, Chascomús, Argentina

#### **Resumen**

La tritrichomonosis es una enfermedad venérea causada por el protozoo extracelular *Tritrichomonas foetus*. Si bien es una enfermedad que provoca pérdidas reproductivas, y por ende económicas, en el ganado de diferentes regiones del mundo; aún se desconoce en detalle el mecanismo de división celular de este parásito. Inicialmente, el presente trabajo demuestra la existencia de heterogeneidad en la cantidad de núcleos y el contenido de ADN/célula en los diferentes aislamientos de *T. foetus*. Luego, comprobamos que el hambreado (en ausencia o deficiencia de nutrientes) induce la formación de células multinucleadas y favorece a su vez la formación de estructuras de resistencia denominadas “pseudoquistes”. Finalmente, reportamos que *T. foetus* posee la capacidad de endoreplicar su ADN acoplado a un mecanismo de división celular denominado “fisión múltiple”, como estrategia de multiplicación frente a condiciones ambientales adversas.

#### **Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

#### **Categorías**

4 - Epidemiología y Vectores.



## COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO 5: Biología molecular y celular.

### COP-107

#### Heterogeneidad transcripcional y en la organización de la cromatina en los compartimentos genómicos de parásitos protozoarios.

**Díaz-Viraqué F<sup>1</sup>, Chiribao ML<sup>2</sup>, Robello C<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Institut Pasteur Montevideo y UdelaR, Montevideo, Uruguay

#### Resumen

El control de la expresión de los genes es resultado de la contribución de diversos mecanismos moleculares que aseguran conductas celulares coordinadas. En organismos patógenos, la interacción con el hospedero está regulada por cambios coordinados en la expresión génica de ambas entidades. *Trypanosoma brucei* realiza eficientemente variación antigénica, este es un mecanismo fundamental de parasitismo, por lo que nos interesa estudiar las bases moleculares de la regulación de la expresión de estos genes en los tripanosomas. En *T. brucei* y *Trypanosoma cruzi* los genes antigénicos se encuentran en determinadas regiones del genoma y mediante análisis de datos transcriptómicos y de posicionamiento de nucleosomas observamos que estos compartimentos genómicos presentan diferentes características de expresión génica. Comparamos la estructura 3D del genoma en estas regiones mediante análisis de captura de conformación de la cromatina y observamos que los compartimentos con genes antigénicos presentan interacciones intracromosómicas debilitadas en comparación con las regiones del genoma con genes conservados. Incluso, observamos mayores cambios estructurales entre los compartimentos que entre estadios, donde no se observan mayores diferencias. Identificamos determinados patrones de organización genómica 3D en relación a regiones transcripcionalmente activas y correlación con otros aspectos epigenéticos como es la metilación del ADN. Existe una fuerte asociación entre la marca 5mC antisentido con las regiones genómicas que son activamente transcritas. Mediante estos estudios determinamos mecanismos epigenéticos que regulan la expresión génica en los tripanosomas.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

2 - Biología Parasitaria.

**COP-034****Los exosomas producidos por tres cepas del parásito *giardia lamblia* presentan arn pequeños.****Musso J, Moyano S, De la Cruz Thea B, Natali L, Musri M, Touz MC**

Instituto de Investigacion Medica Mercedes y Martin Ferreyra, Cordoba, Argentina

**Resumen**

Los exosomas son vesículas de 40 a 100 nm que se liberan desde diferentes tipos celulares hacia el espacio extracelular y transfieren selectivamente proteínas, lípidos, ARNm y ARN pequeños (sARN) de una célula a otra. Recientemente, caracterizamos el origen, forma y tamaño de vesículas extracelulares similares a exosomas (tExo, tipo-exosomas) en el aislado WB1267 del parásito *Giardia lamblia*. Encontramos que los tExo de *G. lamblia* contienen proteínas típicas de exosomas de otros tipos celulares, así como proteínas específicas del parásito. En este trabajo, investigamos la presencia de sARN en tExo de los aislados de *G. lamblia* WB y GS que infectan a humanos y muestran diferencias en la patogenicidad, la tasa de crecimiento y la respuesta a fármacos. También, como control, analizamos los sRNA de los tExo de la cepa P15 que infecta cerdos. Para abordar nuestra investigación, realizamos extracciones de ARN total de los tExo de cada aislado mediante TRIzol®, se generaron bibliotecas de ADNc de sARN, como lo hemos realizado previamente y se secuenció mediante MySeq (Illumina®). Los análisis de sARN exosómico mostraron secuencias únicas para cada aislamiento, así como secuencias comunes entre ellos. Se identificaron además sARN diferencialmente abundantes entre los grupos. En resumen, identificamos con éxito perfiles de sARN exosomal en 3 aislados diferentes de *G. lamblia*. Comparar las secuencias obtenidas con los datos publicados e identificar sus secuencias blanco, nos permitirá determinar el papel fisiológico y las funciones específicas de estos sARN en los tExo del parásito. Estos resultados podrían tener un impacto en la salud humana al mejorar nuestra comprensión de los procesos subyacentes a la infectividad, la patogénesis y la resistencia a los medicamentos de diferentes aislados de *Giardia*.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

2 - Biología Parasitaria.

## COP-057

### **Knockdown of the RNA-binding protein TcUBP1 in epimastigote cells reveals its essential role in trypanosome life cycle progression.**

**Sabalette KB, Campo V, De Gaudenzi J**

IIBIO-UNSAM, San Martín, Argentina

#### **Resumen**

Throughout its life cycle, *Trypanosoma cruzi* must adapt to dissimilar environments in a quickly and dynamically manner. Here, gene expression variation of the regulatory RNA-binding protein TcUBP1 plays a crucial role. We have previously shown that the over-expression of TcUBP1 in epimastigotes triggers an expression profile that resembles infective forms and increases twice the infectivity of cell-derived trypomastigotes. At this time, we intended to obtain knockout parasites for TcUBP1 by using CRISPR/Cas9 technology. In an attempt to do so, we were able to generate an endogenous genome editing of the coding sequence by removing the first 6 residues corresponding to the N-terminal region of the protein. Interestingly, while the expression of  $\Delta$ N-TcUBP1 was reduced by 70% compared to the wild type form, immunofluorescence analysis with specific antibodies revealed its typical cytoplasmic subcellular localization pattern. Although these TcUBP1-knockdown parasites were able to differentiate from epimastigotes to metacyclic tripomastigotes and infect mammalian cells normally, no cell-derived trypomastigotes were obtained from in vitro infection assays. This result, in concordance with previous studies, suggest a specific role of TcUBP1 in the differentiation processes from replicative to infective forms. In order to exhaustively elucidate the specific contribution of TcUBP1 to the *T. cruzi* transcriptome, total RNA samples from wild type, TcUBP1- overexpressing or -knockdown epimastigotes were purified and subjected to high-throughput RNA-seq analysis. Comparison of the modulated mRNAs (up/downregulated) that we expect to find in this study, will expand our current knowledge of TcUBP1, allowing us to identify the genes engaged among the different expression profiles.

67

---

#### **Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

#### **Categorías**

2 - Biología Parasitaria.

## COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO 7: Respuesta inmune e infecciones parasitarias.

### COP-083

#### **Predicción de epítopes de dos isoenzimas de Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa de *Echinococcus granulosus* reconocidas por anticuerpos de pacientes con equinococosis quística.**

**Agüero FA<sup>1,2</sup>, Maglioco A<sup>1,2</sup>, Paulino M<sup>3</sup>, Fuchs AG<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>CAECIHS-UAI, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>DETEMA-Udelar, Motevideo, Uruguay. <sup>4</sup>INP-Fatala Chaben, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

#### **Resumen**

Introducción: La equinococosis quística (EQ) es una zoonosis parasitaria de distribución mundial causada por la forma larvaria de *Echinococcus granulosus*. Nuestro grupo ha desarrollado la línea celular parasitaria EGPE (Echeverría y col, 2010), cuyas proteínas han permitido obtener mayor sensibilidad de reconocimiento por anticuerpos que el líquido hidatídico en un estudio caso-control (Maglioco y col, 2019). El análisis por espectrometría de masas de eluidos de columnas de afinidad preparadas con sueros de pacientes de EQ de localización hepática permitió identificar dos isoenzimas de Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH): W6UJ19 presente en el extracto celular de cultivo de EGPE y W6V1T8 presente en el sobrenadante de colonias quísticas de EGPE en agarosa. Objetivo: Estudiar los epítopes B implicados en el reconocimiento de estas dos isoenzimas. Metodología: Generación de los modelos estructurales de las proteínas con servidor Phyre2 y validación por ProSA-Web y dinámica molecular (NAMD). Predicción de epítopes B lineales por ABCpred y predictores contenidos en IEDB (Immune epitope database and analysis resource) y de epítopes conformacionales por Discotope 2.0. Resultados: Las dos isoenzimas presentan una identidad de 74,11% y RMSD de 5.61, 3.69, 5.15 y 5.46 entre las cadenas proteicas que las componen. Se predijeron epítopes en ambas enzimas, en W6UJ19 los epítopes conformacionales estarían localizados en Lys187-Leu205 y los lineales en Ala82-Thr103, Ser123-Leu138, Lys140-Thr155, Gln186-Arg201, Asp282-Ile303; mientras que en W6V1T8 los epítopes conformacionales se ubicarían en Lys185-Gln203 y los lineales en Lys138-Thr153 y Phe286-Ile301. Conclusiones: Las G3PDH reconocidas por los antisueros de los pacientes presentan antígenos distintos. La utilidad diagnóstica de los epítopes predichos deberá ser analizada en estudios Posteriores.

#### **Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

#### **Categorías**

1 – Inmunología.

**COP-096*****Trypanosoma cruzi* inhibe el crecimiento tumoral en ratones C57BL/6 desafiados con la línea celular B16-F10.****Kaufman C<sup>1,2</sup>, Farré C<sup>1</sup>, Biscari L<sup>1,2</sup>, Huhn V<sup>1</sup>, Pérez AR<sup>1,2</sup>, Alloatti A<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER), Rosario, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Rosario, Argentina.**Resumen**

La regresión tumoral espontánea se asocia frecuentemente con infecciones. Con el objetivo de evaluar el potencial antitumoral de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Enfermedad de Chagas, sobre la línea celular tumoral B16-F10, ratones C57BL/6 adultos fueron divididos al azar en tres grupos: Tumor (G1), Infección (G2) y Tumor+Infección (G3). G2 y G3 fueron infectados intraperitonealmente con 500 tripomastigotes de la cepa Tulahuén (día 0); G1 y G3 fueron desafiados en forma subcutánea con 200.000 células B16-F10 (día 16). La evolución tumoral se analizó midiendo con calibre los diámetros menor y mayor. También, se realizó un seguimiento del peso corporal y de la parasitemia (PAR: recuento de parásitos en sangre). Cuando el primer ratón alcanzó el máximo volumen tumoral éticamente permitido, todos los animales fueron sacrificados. Al día 11, se encontraron parásitos en sangre (G2 y G3,  $p < 0.05$  One sample t test; G2 vs. G3, ns. Mann Whitney test). El aumento en PAR fue acompañado por una disminución progresiva en el % de peso corporal (G1 vs. G2 y G1 vs. G3 - día 23,  $p < 0.01$  ANOVA-MC). Para aminorar estos efectos de la infección sobre el estado general de G3, se administró Benznidazol (100 mg/kg/semana) por sonda esofágica hasta una reducción significativa de PAR. Desde el día 28 (día 12 post-inoculación), momento en el que los tumores de G1 y G3 resultaron palpables, el volumen tumoral de G3 resultó significativamente menor al de G1 (días 28-35 y 37-44,  $p < 0.005$  y  $p < 0.01$ , respectivamente, Mann Whitney test) mientras se observó una disminución de PAR por el tratamiento suministrado. Además, se hallaron diferencias entre los grupos en el área bajo la curva del volumen tumoral ( $p < 0.005$  Mann Whitney test) y en el peso tumoral al momento del sacrificio (día 45 -  $p < 0.05$  Unpaired t test). Por tanto, concluimos que la infección con *T. cruzi* inhibe el crecimiento de la línea tumoral B16-F10, probablemente debido al mimetismo molecular entre *T. cruzi* y antígenos tumorales.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

1 – Inmunología.

**COP-098****Vacuna profiláctica basada en el fragmento nt de la transialidasa induce inmunidad protectora tras el desafío oral con t. cruzi y reduce el impacto a nivel del miocardio durante la fase crónica.****Bulfony Balbi C<sup>1</sup>, Pacini MF<sup>1</sup>, Dinatale B<sup>1</sup>, Gonzalez FB<sup>1</sup>, Farre MC<sup>1,2</sup>, Prochetto E<sup>3</sup>, Marcipar I<sup>3</sup>, Cabrera G<sup>3</sup>, Perez AR<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>IDICER, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>CIPREB, FCM-UNR, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Lab de Tecnología Inmunológica, UNL., Santa Fe, Argentina**Resumen**

Actualmente no se dispone de una vacuna profiláctica que evite la Enfermedad de Chagas. En este estudio nos propusimos evaluar si una vacuna intranasal basada en un fragmento Nt de la Transialidasa (TS) y formulada con el adyuvante c-di-AMP controla el crecimiento parasitario y atenúa el daño cardíaco crónico causado tras la infección oral por T. cruzi.

Se utilizaron ratones macho (M) y hembra (H) BALB/c (n=4-7/grupo). Los animales fueron inmunizados por vía intranasal con 3 dosis (una cada dos semanas) de las siguientes formulaciones: Vehículo (solución salina, grupo SS); 10 µg de TS diluidos en SS (grupo TS) y 10 µg de TS combinada con 5 µg de c-di-AMP (grupo TS+c-di-AMP). Posteriormente, fueron desafiados por vía oral con 3000 parásitos Tulahuén. La parasitemia se evaluó por el método de Brener a partir de sangre de la cola. La condición clínica se evaluó en forma sostenida hasta el día 100 post-infección (pi). Al día 100 pi, se realizaron estudios electrocardiográficos bajo anestesia (ketamina/xilaxina) y se extirparon los corazones para el Pósterior análisis de la MCC mediante tinción con H&E. Los datos fueron analizados mediante test no paramétricos.

Las parasitemias fueron más elevadas en M que en H, independientemente del grupo evaluado y decayeron más tardíamente, alrededor del día 45 pi. Sin embargo, tanto los M como las H inmunizados con TS+c-di-AMP mostraron menores parasitemias que los grupos restantes. Asimismo, en el grupo TS+c-di-AMP, los signos clínicos asociados a la infección fueron menos evidentes en H que en M (score clínico, p <0,05). En la fase crónica, tanto en H como en M, la inmunización con TS+c-di-AMP disminuyó la MCC y restableció parámetros electrocardiográficos (QRS, QTc) a niveles similares a los del grupo SS.

Estos resultados indican que la administración nasal de TS+c-di-AMP controla el crecimiento parasitario y disminuye el impacto a nivel del miocardio en la fase crónica.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

1 – Inmunología.

## COMUNICACIONES ORALES DEL SIMPOSIO 8: Interacción parásito - célula hospedadora.

COP-077

### The *Trypanosoma cruzi* autophagy pathway is a novel target to inhibit parasite replication and host cell infection.

**Rivero CV<sup>1</sup>, Martínez SJ<sup>1</sup>, Cueto JA<sup>1,2</sup>, Salassa BN<sup>1,3</sup>, Vanrell MC<sup>1,4</sup>, Romano PS<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología de *Trypanosoma cruzi* y la célula hospedadora (IHEM-CONICET-UNCUYO), Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Fisiología (FCM-UNCUYO), Mendoza, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Odontología (FO-UNCUYO), Mendoza, Argentina. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Médicas (FCM-UNCUYO), Mendoza, Argentina.

#### Resumen

*Trypanosoma cruzi* is the causative agent of Chagas disease (CD), a neglected tropical disease highly widespread in the world. Due to the two only approved drugs for CD treatment, Benznidazole and Nifurtimox, display toxicity and low effectiveness in the chronic stage, there is an urgent necessity to find new more effective treatments for this illness. Cruzipain is a cysteine protease of *T. cruzi* that plays a key role in parasite nutrition, differentiation and host cell infection, being considered as a validated target for new anti-parasitic drugs. Previous data from our laboratory showed that *T. cruzi* autophagy regulates cruzipain activity during parasite differentiation and host cell infection. In this work we analyzed the action of carvedilol (CVL), a beta-blocker drug that was selected in a virtual screening for cruzipain inhibitors. Treatment of *T. cruzi* epimastigotes with 10 mM CVL produced the accumulation of enlarged autophagy vacuoles characterized by reduced acidity and hydrolytic activity, commonly observed during the autophagy flux inhibition. Interestingly, CVL treatment decreased the replication of both extracellular and intracellular parasitic forms of *T. cruzi* and significantly reduced the parasite load in infected cells. Inhibition of autophagy by CVL also impaired the infective capacity of trypomastigotes and reduced its survival. Treatment of mice with CVL at a dose of 25 mg/Kg/day resulted in a significant reduction on the infection at 14 days post-infection compared to control animals. In summary, we repositioned CVL as a novel inhibitor of autophagy flux in *T. cruzi* that exhibits a significant anti-parasitic activity. Furthermore, we propose *T. cruzi* autophagy as a new target against this parasite and its inhibitors as attractive drugs to be evaluated for Chagas disease treatment.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

**COP-091****Rol del AMPc en la modulación de marcadores inflamatorios en la infección por *Trypanosoma cruzi* in vitro.****Magrotti Mesa L<sup>1</sup>, Ferri G<sup>2</sup>, Rivas V<sup>3</sup>, Edreira MM<sup>2</sup>, Kolender A<sup>3</sup>, Musikant AD<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Departamento de Química Biológica - UBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>IQUIBICEN - UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CIHIDECAR -CONICET- UBA, Buenos Aires, Argentina.**Resumen**

Los tripomastigotes de *T. cruzi* inducen un aumento del AMPc intracelular en células del huésped. Utilizando IBMX, un paninhibidor de fosfodiesterasas (PDEs) se indujo un incremento de AMPc que produce un aumento de la invasión mediado por EPAC, proteína efectora de esta vía. El cilostazol (CLZ) es un inhibidor de la PDE3 utilizado en pacientes como vasodilatador, inhibidor plaquetario y tratamiento de síntomas asociados a cardiomiopatías. Las aproximaciones desde la nanotecnología han demostrado mejoras de parámetros farmacológicos y previamente obtuvimos nanopartículas de CLZ (CLZ-NPs) con dos polímeros derivados de galactosa, poli (éster triazol) y el poli (amida triazol) utilizando PVA como surfactante. Las Metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs) son enzimas involucradas en los procesos de remodelación tisular, liberando y activando quimioquinas proinflamatorias embebidas en la matriz extracelular. *T. cruzi* induce alteraciones en la actividad de MMP-2 y -9 en la infección experimental *in vivo* e *in vitro*. En el presente trabajo analizamos el efecto de inhibidores de PDEs en la actividad de la MMP-2 y -9 en el contexto de la infección *in vitro* por *T. cruzi*. Observamos que el aumento de AMPc (a través de inhibidores de PDEs, activadores de la síntesis de AMPc o utilizando un análogo de esta molécula) induce una disminución de la actividad de MMP-9 en los sobrenadantes de cultivo celular ( $p < 0,05$ ). Los sobrenadantes de células infectadas con tripomastigotes mostraron un aumento de la actividad de las MMPs ( $p < 0,01$ ). Sin embargo, las células infectadas y tratadas con los inhibidores de PDEs (libre o en NPs) revirtieron dicho aumento a los niveles de actividad de las células no infectadas. Nuestros resultados demuestran que los inhibidores de PDEs poseen un efecto modulador sobre la actividad de las MMPs. Teniendo en cuenta el efecto cardioprotector del CLZ, sería relevante profundizar estos estudios en vistas de un potencial tratamiento para la Enfermedad de Chagas.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.



## COP-011

### Comparación de pruebas serológicas para la detección de anticuerpos anti-*Neospora caninum* en ciervos colorados (*Cervus elaphus*).

**Novoa MB<sup>1</sup>, Soler JP<sup>2</sup>, Cirone KM<sup>3</sup>, Prando Moore D<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICAL, INTA-CONICET), Rafaela, Argentina. <sup>2</sup>Veterinario de actividad privada (CERVUS), Mar del Plata, Argentina. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Balcarce, Argentina

#### Resumen

*Neospora caninum* es un parásito intracelular obligado que causa abortos y neonatos débiles en rumiantes. En un trabajo científico reciente se reportó por primera vez un brote de abortos causado por *N. caninum* en un rodeo de ciervos colorados criados en cautiverio en la provincia de Buenos Aires. En el presente trabajo se evalúan los sueros de las hembras de dicho rodeo a través de un ELISA de competición (ELISAc) e inmunofluorescencia indirecta (IFI) y se comparan los resultados de ambas pruebas. Se tomaron muestras de suero de 115 ciervas, de las cuales 39 presentaron abortos. El ELISAc se realizó según un protocolo descrito previamente para sueros de bovinos, los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición (%) y se utilizó como punto de corte el descrito para bovinos ( $\geq 29\%$ ). La IFI se realizó utilizando diluciones seriadas en base doble de los sueros hasta el título final. Se consideraron positivos los sueros que presentaron fluorescencia en toda la superficie de los taquizoitos en una dilución 1:100 o mayor. Se utilizó el coeficiente de concordancia de primer orden de Gwet (AC1) con un nivel de confianza del 95% para calcular la concordancia entre los resultados de ambas pruebas. Se calculó el porcentaje de acuerdo general, positivo y negativo entre los resultados de ambas pruebas. El 56,52% de los sueros resultaron positivos al ELISAc y el 53,91% a la IFI. El 97,4% de las ciervas que abortaron resultaron positivas al ELISAc y el 92,3% a la IFI. El coeficiente AC1 entre los resultados de ambas pruebas fue 0,776. El porcentaje de acuerdo general fue del 88,7%. Los porcentajes de acuerdo entre los resultados positivos y negativos de ambas pruebas fueron 89,7% y 87,4%, respectivamente. En conclusión, el acuerdo entre el ELISAc e IFI fue bueno, se debe seguir trabajando con un mayor número de sueros de ciervos colorados para validar y establecer un punto de corte óptimo para el uso de ambas pruebas serológicas en la especie.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

## PRESENTACIONES RÁPIDAS DE PÓSTER: Mini COMUNICACIONES ORALES

### COP-007

#### **Rol de la proteína TcHRG en la incorporación y homeostasis de hemo en *Trypanosoma cruzi*.**

**Tevere E, Di Capua CB, Cricco JA**

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario - CONICET/UNR, Rosario, Argentina

#### **Resumen**

*Trypanosoma cruzi* presenta auxotrofia para el hemo a pesar de requerirlo en diversas hemoproteínas esenciales. *In vivo*, *T. cruzi* se encuentra en contacto con hemoglobina (Hb) y con hemo libre, y puede utilizar ambas moléculas como fuente de hemo. TcHRG (*Trypanosoma cruzi* Heme Responsive Gene) es una proteína de membrana involucrada en la incorporación de hemo y que se localiza en el bolsillo flagelar, región propuesta para la incorporación de nutrientes. Por otra parte, *T. cruzi* cuenta con el complejo citostoma-citofaringe (CCC), involucrado en la endocitosis, y evidencia reciente sugiere que este fenómeno ocurriría de forma inespecífica. Esto explicaría por qué aún no se han identificado receptores específicos que medien la endocitosis de proteínas (Hb, transferrina, etc.) como se han descrito en otros tripanosomátidos.

Previamente hemos demostrado que el parásito tiene capacidad de sensar la concentración de hemo intracelular (CIH) y modular la expresión de TcHRG (y por ende el transporte de hemo libre) a fin de mantener la concentración de hemo intracelular en un rango óptimo.

Nuestros hallazgos recientes demuestran que el patrón de expresión (ARNm y proteína) de TcHRG es similar en parásitos cultivados tanto con hemina como con Hb. Por otra parte, la sobreexpresión de TcHRG genera un aumento de la CIH en parásitos cultivados con ambas fuentes de hemo. Estos resultados sugieren que existiría un mecanismo de regulación común de homeostasis del hemo y permite proponer dos modelos complementarios de incorporación de Hb en *T. cruzi*. La Hb podría ingresar mediante endocitosis a través del CCC y ser degradada intracelularmente para obtener hemo libre, o bien ser degradada extracelularmente mediante proteasas liberadas por el parásito, donde el hemo liberado ingresa facilitado por TcHRG. En ambos casos, una vez alcanzada la CIH óptima, la expresión de TcHRG disminuye para evitar la incorporación de un exceso de hemo.

#### **Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

#### **Categorías**

2 - Biología Parasitaria.

## COP-008

### Respuesta al hemo en el transcriptoma de *Trypanosoma cruzi*.

**Di Capua C<sup>1,2</sup>, Tevere E<sup>1</sup>, Berna L<sup>3,4</sup>, Cribb P<sup>1,2</sup>, Cricco J<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Fac. de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Institut Pasteur Montevidei, Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Facultad de Medicina (UDELAR), Montevideo, Argentina

#### Resumen

*Trypanosoma cruzi* es auxótrofo para el cofactor hemo. En las etapas replicativas de su ciclo de vida es capaz de importar hemo desde sus hospedadores, donde la proteína TcHRG es esencial para asegurar la incorporación adecuada del cofactor. La expresión de TcHRG se ve incrementada ante la escasez de hemo y reducida cuando el parásito recupera los niveles necesarios del mismo. Debido a que el hemo es al mismo tiempo una molécula esencial y tóxica, el parásito debe realizar un control estricto sobre su importación, tráfico y detoxificación.

Con el fin de evaluar los actores involucrados en la homeostasis del hemo, diseñamos un experimento de transcriptómica para estudiar el efecto de la suplementación con hemina o hemoglobina (fuentes de hemo) en epimastigotes de *T. cruzi* sometidos a un ayuno previo del cofactor. Se utilizó como referencia el genoma *T. cruzi* DM28c 2018 (TriTrypDB). Detectamos 249 genes diferencialmente expresados (GDE) en cultivos suplementados con hemina o hemoglobina luego de 4 hs y 178 GDE después de 24 hs de la suplementación. Contrastando los resultados con aquellos obtenidos en la condición control, identificamos un grupo de 22 genes que responden de forma específica a la suplementación con hemo. Entre ellos fueron *down-regulados* TcHRG, *Ferric reductase* y *RNA binding protein 5*.

Podemos concluir que en el ensayo observamos una respuesta global de los parásitos a la renovación del medio de cultivo y restablecimiento de la fuente de hemo. Asimismo, identificamos un grupo de genes que estarían directamente involucrados en la adaptación a diferentes condiciones nutricionales como ayuno o niveles variables de hemo, aunque son necesarios más ensayos para identificar en los roles específicos de cada uno. Comprender en profundidad el transporte y la homeostasis del hemo contribuirá a descubrir nuevas moléculas diana para controlar la proliferación de *T. cruzi*.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

2 - Biología Parasitaria.

## COP-031

### **Evaluación de la capacidad protectora de la Proteína de Superficie de Amastigotes 2 formulada en una vacuna de subunidad, contra la infección por *Trypanosoma cruzi*.**

**Díaz G<sup>1</sup>, Prochetto E<sup>1</sup>, Marcipar I<sup>1,2</sup>, Bontempi I<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>LTI – FBCB - UNL, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>FCM-UNL, Santa Fe, Argentina

#### **Resumen**

El desarrollo de una vacuna profiláctica supone una solución ventajosa para el control de la enfermedad de Chagas, en relación a los tratamientos disponibles. Actualmente, los candidatos vacunales más promisorios han sido evaluados en plataformas de ADN, vectores adenovirales, subunidades proteicas o combinaciones heterólogas. Sin embargo, la Proteína de Superficie de Amastigotes 2 (ASP2), perteneciente a la familia de la transialidasa, ha sido evaluada en menor medida. En este trabajo empleamos a la ASP2 recombinante formulada con el adyuvante particulado ISPA y realizamos una evaluación integral de este antígeno como candidato vacunal. Luego de la inmunización, los niveles de anticuerpos específicos para ASP2 fueron significativamente mayores para el grupo ASP2/ISPA, con respecto al grupo control con PBS ( $p < 0,0001$ ). Del análisis del cultivo de esplenocitos de los ratones inmunizados, obtuvimos una mayor proliferación antígeno-específica en el grupo ASP2/ISPA de linfocitos T CD4<sup>+</sup> ( $p < 0,05$ ). Además, en este grupo obtuvimos un mayor porcentaje de linfocitos T CD4 IFN $\gamma$ <sup>+</sup>, TNF $\alpha$ <sup>+</sup> e IL17<sup>+</sup>, y linfocitos T CD8 IFN $\gamma$ <sup>+</sup> y IFN $\gamma$ <sup>+</sup>-CD107<sup>+</sup>. Estos resultados apuntan hacia una respuesta específica Th1 y Th17, con activación de linfocitos T citotóxicos. Finalmente, para evaluar la capacidad protectora de la formulación, se realizó el desafío con *T. cruzi* a ratones inmunizados. En los primeros 35 días post infección (dpi), se observó una disminución de signos de infección, parasitemia y pérdida de peso para el grupo ASP2/ISPA ( $p < 0,05$ ). El análisis de tejido cardíaco luego de 100 dpi, arrojó una marcada reducción del daño celular, infiltrado inflamatorio y fibrosis en el grupo ASP2/ISPA, con respecto al grupo control ( $p < 0,001$ ). Concluimos que la ASP2 formulada en una vacuna de subunidad con el adyuvante ISPA, genera una gran activación de la respuesta inmune celular, con capacidad protectora contra la infección por *T. cruzi*, destacándose la reducción del daño crónico al tejido cardíaco.

#### **Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

#### **Categorías**

1 – Inmunología.

**COP-047****Anotación funcional del genoma de la cepa RA de *Trypanosoma cruzi*.****Cepeda Dean AA<sup>1</sup>, Robello C<sup>2</sup>, Berná L<sup>2</sup>, Buscaglia CA<sup>1</sup>, Balouz V<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas 'Dr Rodolfo Ugalde' (IIBio), Universidad Nacional de San Martín y CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay.**Resumen**

*Trypanosoma cruzi* está compuesto por seis linajes evolutivos (TcI a TcVI), cada uno de los cuales incluye múltiples cepas que muestran una gran variabilidad genotípica. Estudios comparativos entre los genomas de *T. cruzi* disponibles, indican que uno de los factores que más contribuyen a su diversidad genética es la amplificación/contracción y/o diversificación de familias multigénicas importantes para la interacción con el huésped (por ej, mucinas, *trans*-sialidasas [TSs], mucin-associated surface proteins [MASPs], etc). Utilizando métodos NGS (next generation sequencing) secuenciamos el genoma de la cepa RA (TcVI); una cepa virulenta en distintos modelos de infección. Basándonos en herramientas bioinformáticas de última generación (BLAST, EMBOSS, comandos de Linux, scripts en Python, entre otros) y bases de datos curadas manualmente, diseñamos algoritmos para la identificación y clasificación fehaciente de las familias características de este organismo, realizando así la anotación funcional de esta cepa. Paralelamente, basándonos en las mismas herramientas, realizamos la reanotación del genoma de la cepa TCC (también TcVI, aunque naturalmente atenuada) y comparamos el perfil de distintas familias multigénicas entre ambas cepas. A pesar de las claras diferencias fenotípicas, nuestros resultados indican que RA y TCC no presentan diferencias significativas en el dosaje génico ni en el espectro de variabilidad alélica para distintos grupos de mucinas, TSs y MASPs. Actualmente nos encontramos explorando la posible contribución de los pseudogenes y/o genes quiméricos de estas familias y otros grupos de secuencias (por ejemplo, genes hipotéticos, transposones) a la diversidad genética entre estas cepas. Este proyecto, además de facilitar los estudios básicos y aplicados en la cepa RA, permitirá mejorar nuestro entendimiento acerca de los factores relacionados con la virulencia de este relevante patógeno regional.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

1 - Biología Parasitaria.

## COP-108

### Generación de líneas genéticamente modificadas utilizando CRISPR/Cas9 para el estudio de la respuesta a estrés en *Trypanosoma cruzi*.

Libisch G<sup>1</sup>, Specker G<sup>2</sup>, Piacenza L<sup>2</sup>, Robello C<sup>2,1</sup>, Chiribao ML<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

#### Resumen

*Trypanosoma cruzi* es un parásito con una gran capacidad de adaptación a diferentes situaciones adversas. Durante su ciclo de vida se enfrenta a cambios de pH, de temperatura, en la disponibilidad y tipo de nutrientes y también es sometido a ambientes pro-oxidantes generados por sus hospederos. Estas condiciones adversas o estresores, cumplen un rol fundamental en la diferenciación del parásito durante el ciclo de vida. La mitocondria es un organelo fundamental en la respuesta al estrés regulando procesos tales como la muerte celular programada y la autofagia.

Dentro del sistema de enzimas antioxidantes, se encuentran las enzimas mitocondriales superóxido dismutasa A (SODA) y triparredoxina peroxidasa mitocondrial (MPX) las cuales participan en la detoxificación del anión superóxido y de peróxidos respectivamente. En particular SODA ha sido involucrada en el control de la muerte celular programada y en la proliferación de los parásitos mediante el control de los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Por el contrario, MPX ha emergido como una enzima capaz de detoxificar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pero también con un rol como chaperona molecular.

Debido a la dificultad de generar líneas de parásitos *knock down* o *knock out* que existía hasta hace unos años, por las técnicas de manipulación genética tradicionales, la mayoría de los estudios funcionales fueron realizados con parásitos sobre-expresantes. Recientemente, con el desarrollo de la tecnología CRISPR/Cas9 en el parásito, se ha hecho posible la generación de líneas parcial o completamente deficientes de un gen, así como también la mutación y el etiquetado endógeno génico de manera muy eficiente.

En este trabajo, utilizamos la estrategia CRISPR/Cas9 para generar líneas policlonales deficientes en los genes SODA y MPX. Las líneas fueron utilizadas para estudiar la función de ambas proteínas en la respuesta a diferentes tipos de estrés en el parásito.

#### Tipo de Presentación

Comunicación Oral y Póster.

#### Categorías

2 - Biología Parasitaria.

**COP-014****A drug-target prioritization strategy using the TDR Targets database leads to novel trypanocidal compounds with known active functional groups.****Urán Landaburu L, Tekiel V, Agüero F**

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO), UNSAM-CONICET, Gral. San Martín, Argentina.

**Resumen**

The drug repurposing approach to drug discovery for neglected diseases has shown to be effective to find potential therapeutic agents. For Chagas disease, in particular, with some of these agents even making it to clinical trials. We have shown that a programmatic approach for drug repurposing, using intensive chemogenic data integration strategies, can recall known bioactive compounds and druggable targets for a selected pathogen species, and can also recommend novel drug-target pairs for further experimental validation (Berenstein et al, 2016). In this work, we used the TDR Targets database (Landaburu et al, 2020) for target prioritization and drug recommendation, followed by a filtering pipeline addressing compound novelty, commercial availability and functional groups. As a result we obtained 18 compound libraries, each one collecting compounds with a different known active pharmacophore. In this work two libraries were selected for manual curation and further analysis: one library containing 28 piperazines, and another one containing 15 nitro-compounds). Out of a total of 43 compounds, 22 were acquired for experimental validation.

Trypanocidal activity of these compounds was determined in-vitro against *T. cruzi* amastigotes growing in Vero cells, using Tulahuen parasites expressing a bacterial LacZ beta-galactosidase gene (Buckner 1996), incubating cultures with drug-supplemented (20  $\mu$ M) RPMI media over 96 hs, and measuring  $\beta$ -gal activity as a proxy for parasite growth. Compound cytotoxicity was assessed in uninfected Vero cells by resazurin assay with similar drug concentrations.

From this primary screening, 5 compounds displayed promising results, with good trypanocidal activity, and low/no cytotoxicity. An additional set of 4 compounds killed both host cells and parasites and thus should be assayed in lower concentrations to determine selectivity. All 9 compounds will be investigated further.

79

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

**COP-051****Screening of antigens for the improvement of Congenital Chagas Disease using an optimized Fluorescence-Linked Immunosorbent Assay (FLISA).****Bracco LE<sup>1</sup>, Mucci JS<sup>1</sup>, Salas Sarduy E<sup>1</sup>, Moscatelli G<sup>2,3</sup>, Moroni S<sup>2,3</sup>, Altcheh J<sup>2,3</sup>, Bua J<sup>4</sup>, Agüero F<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO), UNSAM - CONICET., San Martín, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Servicio de Parasitología y Chagas, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP), GCBA – CONICET., Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Mario Fatała Chabén”, Administración Nacional de Laboratorios de Salud (ANLIS), Buenos Aires, Argentina.

**Resumen**

Congenital infections with *Trypanosoma cruzi* represent a global problem, occurring on average in 5% of children born from chronically infected mothers, both in endemic and non-endemic areas, with variations depending on the region. At least 2 million women in fertile age are estimated to be chronically infected with *T. cruzi* and can potentially transmit the disease vertically. Diagnosis of Congenital Chagas Disease currently depends on microscopic observation of mobile trypomastigotes in cord or peripheral blood of newborns after a concentration procedure. These tests offer a definitive diagnosis allowing for rapid initiation of treatment. However, they require skilled personnel and quality control procedures, which may not be available in primary health care facilities in rural endemic areas. Hence, simple, rapid and low-cost tests are preferred. Serological tests often fill this criteria, but maternal IgG antibodies can cross the placenta, and currently available tests cannot discriminate between infected and uninfected newborns. A good strategy for development of serology-based diagnostics is the identification in the newborn of IgM antibodies or newborn-specific IgGs. We have used high-density peptide microarrays for the simultaneous identification of antigens and mapping of epitopes and recently have scaled this platform to full proteome screening. These lead to the identification of novel serological markers. Here we characterized 21 of these antigens in FLISA assays. Results will be presented from screening a panel of 103 mother-child paired samples (31 with confirmed vertical transmission of the parasite; 72 newborns negative with standard diagnosis). Together, these antigens displayed 94% specificity and 71% sensitivity under screening conditions. We selected a combination of 5 antigens that will be further explored to optimize diagnosis performance.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.



**COP-056****The Chagas Antigen and Epitope Atlas: deep serological surveys of human Chagas Disease populations.****Ricci AD<sup>1,2</sup>, Bracco LE<sup>1,2</sup>, Ramsey JM<sup>3</sup>, Nolan MS<sup>4</sup>, Torrico F<sup>5</sup>, Altcheh J<sup>6,7</sup>, Kesper N<sup>8</sup>, Villar JC<sup>9</sup>, Marco JD<sup>10</sup>, Agüero F<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB), UNSAM. <sup>2</sup>IIBIO-CONICET, San Martín, Argentina. <sup>3</sup>Centro Regional de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud Pública, Tapachula, Mexico. <sup>4</sup>University of South Carolina, Columbia, USA. <sup>5</sup>Fundación CEADES, Cochabamba, Bolivia. <sup>6</sup>Hospital de Niños "Ricardo Gutierrez", Buenos Aires, Argentina. <sup>7</sup>Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP), GCBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>8</sup>Instituto de Medicina Tropical, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil. <sup>9</sup>Universidad Autónoma de Bucamaranga, Bucamaranga, Colombia. <sup>10</sup>Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.

**Resumen**

During an infection, the immune system produces antibodies against pathogens. With time, the immune repertoires of infected individuals become specific to the history of infections and thus represent a rich source of diagnostic markers. Until now, a complete description of antibody specificities in different individuals has been hindered by the lack of powerful tools. Here, using high-density peptide arrays we examined the global human antibody repertoire developed by Chagas Disease patients. We synthesized and assayed twenty-four high-density peptide arrays each displaying 2.8 million unique peptides from 30,500 proteins encoded in the *T. cruzi* CL-Brener (TcVI) and Sylvio X10 (TcI) genomes. These were assayed with serum samples from infected subjects from Argentina, Bolivia, Brazil, Colombia, Mexico and the US, and matched negative samples. Two additional arrays were assayed with samples from Leishmaniasis patients (to screen for cross-reactive peptides). As a result of this discovery phase screening, we obtained 21,062 reactive peptides from 7,707 proteins, corresponding to 3,868 non-redundant antigenic regions. These reactive regions were used to design new high-density peptide arrays for validation, epitope mapping and estimation of seroprevalence of each antigen/epitope. These arrays, displaying 393,000 peptides, were assayed in duplicate with a collection of 71 individual serum samples from the same geographic regions. At this stage we also performed single-residue mutational scanning of selected epitopes to define the core residues of each epitope. In this presentation we will showcase the first proteome-wide search for Chagas Disease antigens and the fine mapping of the identified linear epitopes at the individual level and across different human populations. These datasets enable the study of the Chagas antibody repertoire at an unprecedented depth and granularity, while also providing a rich dataset of serological biomarkers.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

**COP-071****Primer reporte de Eimeria sp. en equinos de Mendoza.****Gonzalez MS<sup>1</sup>, Neira G<sup>1,2</sup>, Godoy D<sup>1,2</sup>, Baigorria G<sup>3</sup>, Llaver L<sup>3</sup>, Mera y Sierra RL<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Universidad Juan Agustín Maza CIPAR, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Mendoza, Argentina. <sup>3</sup>Equidae CyR, Mendoza, Argentina**Resumen**

Los equinos son susceptibles a diversas entidades parasitarias que se han documentado ampliamente en todo el mundo y en nuestro país, sin embargo, los reportes de Eimeria sp. en caballos de Argentina son escasos, se describe en la provincia de Buenos Aires en el año 2008, y en la provincia de Corrientes en el año 2020. Este protozoo apicomplexa afecta las células intestinales produciendo cuadros de diarrea y problemas digestivos. Se asocia generalmente a animales jóvenes, sin embargo, hay registros sobre individuos de 5 a 10 años de edad. En el este trabajo se describe la presencia de Eimeria sp. en la materia fecal de dos equinos en la provincia de Mendoza. Se remitieron un total de 8 muestras provenientes de un establecimiento dedicado al rescate de caballos. Ninguno de los animales presentaba manifestaciones clínicas asociadas a la enfermedad y llevaban tiempo en el establecimiento. Los caballos provenían de lugares diferentes donde fueron rescatados en diversas condiciones de nutrición y salud. La alimentación era a base en fardo de alfalfa y alimento balanceado. Todas las muestras se remitieron individualizadas y refrigeradas y se procesaron mediante técnica de flotación simple y sedimentación rápida de Lumbreras. En dos de las muestras se encontró la presencia de estructuras parasitarias de forma oval, con membrana ooquistica externa gruesa de color marrón oscuro, superficie levemente rugosa, y una membrana interna delgada. Estas características morfológicas son compatibles con ooquistes de Eimeria leuckarti, especie para la cual no pudimos hallar registros en nuestro país. Los equinos positivos no se encontraban en contacto en corrales adyacentes. Ambos animales son adultos y uno de ellos ha tenido una condición corporal más baja, siendo el que presentó mayor presencia de ooquistes, pero sin otro problema detectable. Hasta donde sabemos, este es el primer reporte de Eimeria sp. Para la provincia de Mendoza y de Eimeria leuckarti para la República Argentina.

**Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

**Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.

## COP-111

### **ELISA F29, como biomarcador de eficacia terapéutica frente a la Enfermedad de Chagas.**

**Ruiz AM<sup>1,2</sup>, Rivero R<sup>1</sup>, Velázquez E<sup>1</sup>, Fabro D<sup>3</sup>, Riarte A<sup>1</sup>, Sosa Estani S<sup>4</sup>, Porcel B<sup>5</sup>, Esteva MI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología, CABA, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, CABA, Argentina. <sup>3</sup>CIEN, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>DNDI, CABA, Argentina. <sup>5</sup>Atomic Energy and Alternative Energy Commisión, Gif-sur-Yvette, France.

#### **Resumen**

La evaluación de la respuesta terapéutica etiológica en la enfermedad de Chagas (con benznidazol BZD y nifurtimox NFX) es la negativización de la serología no se dispone hasta el momento de herramientas idóneas para garantizar la respuesta o fallo terapéutico a corto plazo. Se están desarrollando y probando en diferentes contextos clínicos biomarcadores de respuesta terapéutica en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.

La proteína flagelar F29 (proteína ligadora de calcio del *Trypanosoma cruzi*), F29. Se han realizado varios estudios clínicos: 1. Tratamiento de menores de 14 años (TRASA), 2. Estudio retrospectivo de tratamiento con BZD en Santa Fe, 3. Tratamiento adultos con diez años de seguimiento TRAENA, 4. Tratamiento de niños con nifurimox. En estos estudios se evaluó la utilidad de esta proteína como marcador de respuesta terapéutica, inicialmente en sujetos de edad pediátrica, y a Pósteriori en adultos.

Se utilizó un ensayo inmunoenzimático con F29 (ELISA F29) y se analizó su relación con la serología convencional (SC) y la evolución parasitológica y clínica. Los resultados de estos estudios demostraron que este antígeno recombinante F29 es un apropiado marcador de eficacia terapéutica.

La desaparición precoz de los anticuerpos dirigidos hacia F29 en relación con aquellos detectados en la ELISA convencional, indicaría la disminución de la presión antigénica ante la eliminación del parásito.

#### **Tipo de Presentación**

Comunicación Oral y Póster.

#### **Categorías**

3 - Diagnóstico y Tratamiento.



## RESÚMENES DE POSTERS

## 1 - Inmunología

I004

### **Antígenos TcTASV de *Trypanosoma cruzi*, presentados en la plataforma baculovirus, generan más de 90% de protección al desafiar con cepa altamente virulenta en ratones C3H/He y BALB/c.**

**Masip YE<sup>1</sup>, Molina G<sup>2</sup>, Caeiro L<sup>1</sup>, Cosenza M<sup>1</sup>, Molinari MO<sup>2,3</sup>, Tekiel V<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO), General San Martín, Argentina. <sup>2</sup>IABIMO, INTA Castelar, Hurlingham, Argentina. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CABA, Argentina.

#### **Resumen**

TcTASV es una familia multigénica única de *Trypanosoma cruzi* presente en todas las cepas analizadas hasta el momento. Las subfamilias TcTASV-A y C son las más numerosas, presentando diferentes patrones de expresión: TcTASV-A es intracelular y se expresa en amastigotes y tripomastigotes mientras TcTASV-C se expresa en la superficie de tripomastigotes, desde donde es secretada (García et al, 2010; Bernabó et al, 2013; Floridia et al, 2016, 2019). La inmunización con la proteína recombinante TcTASV-C (rTcTASV-C) y diferentes adyuvantes genera una respuesta de anticuerpos parcialmente protectora frente al desafío con RA (cepa altamente virulenta) (Caeiro et al, 2018, 2020). Para mejorar esta respuesta, y considerando que la presentación en cápside de baculovirus (BV) induce respuesta celular, diseñamos un BV recombinante expresando TcTASV-A (BV-A<sub>CAP</sub>) fusionada a VP39, principal proteína de la cápside viral. La inmunización de ratones C3H/He con BV-A<sub>CAP</sub> y rTcTASV-C indujo una respuesta principalmente Th1, humoral y celular contra ambas TcTASVs. Al desafiar con tripomastigotes RA obtuvimos un 95% de supervivencia (vs 0% PBS) y un descenso del 98,5% en la carga parasitaria en tejidos (qPCR). En este trabajo, para verificar la presencia del parásito en tejido luego del descenso inicial de la parasitemia, se inmunosuprimió a ratones sobrevivientes con 3 dosis de ciclofosfamida a partir del día 80 post-infección. El 100% de los ratones vacunados sobrevivió a este tratamiento, controlando la reactivación de la parasitemia. Además, ampliamos los ensayos de inmunización y desafío en otra cepa de ratones (BALB/c, más susceptibles a la infección que C3H/He). Observamos un 80% de supervivencia (vs 0% PBS) y un descenso del 96,7% en la carga parasitaria en tejidos. Concluimos que este esquema de inmunización genera una respuesta efectiva que controla la parasitemia en fase aguda y reduce al mínimo la Pósterior carga parasitaria en tejidos, en diferentes cepas de ratones.

#### **Tipo de Presentación**

Póster.

I012

**Los lípidos de promastigotes de *Leishmania amazonensis* y *Leishmania braziliensis* promueven la polarización de macrófagos.****López SA<sup>1,2</sup>, Penas FN<sup>1,3</sup>, Lauthier JJ<sup>1,2</sup>, Cadena MF<sup>1,2</sup>, Goren NB<sup>1,3</sup>, Ruybal P<sup>1,2</sup>, Gimenez G<sup>1,2</sup>, Belaunzarán ML<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS), Buenos Aires, Argentina.

**Resumen**

Los macrófagos (**Mo**) presentan dos vías de activación clasificándose en clásica (M1) y alternativa (M2). El control de la infección de *Leishmania* spp. requiere una respuesta inmune de perfil Th1 con activación de MoM1, pudiendo evadir dicho control con inducción de MoM2. En este trabajo analizamos el efecto de los lípidos totales de promastigotes de *L. amazonensis* (**Lama**) y *L. braziliensis* (**Lbra**) en la activación de Mo peritoneales murinos. **Lama** y **Lbra** indujeron significativamente la formación de cuerpos lipídicos (CL), marcadores de activación leucocitaria, respecto al control (~10.7 y 10.3 vs 4.5 CL/Mo). En relación a la actividad de la enzima óxido nítrico (**ON**) sintetasa inducible **Lama** indujo significativamente la producción de ON (32.3 µM), por reacción de Griess, mientras que **Lbra** (14µM) no mostró diferencias significativas con el control (10.4µM).

Por otra parte, **Lama** y **Lbra** indujeron la actividad de la enzima Arginasa-1 (marcador M2) siendo **Lbra** quien indujo los mayores niveles de actividad seguido de **Lama** respecto al control (~14 y 7.5 vs 1.7 µg urea/µg proteína/h). Por último, determinamos por qPCR a las 24hs post-estimulación que **Lama** indujo mayores niveles de expresión de ARNm de TNFα (marcador M1) con respecto a **Lbra** y que estos en contraste indujeron niveles significativos de expresión de ARNm de IL-10 con respecto al control, mientras que, para **Lama**, no hubo diferencias significativas. Respecto a los marcadores M2: se determinó que **Lbra** y **Lama** indujeron niveles significativos de ARNm de FIZZ1 (~20.3 y 24 veces vs control). Además, estimularon de forma significativa la expresión de ARNm de YM1 (~4.8 y 7.9 veces vs. control).

*L. amazonensis* y *L. braziliensis* poseen moléculas lipídicas bioactivas que modulan la respuesta inflamatoria en Mo contribuyendo al control/supervivencia de Leishmania. Financiado UBA/CONICET/FONCyT

**Tipo de Presentación**

Póster.

I025

## Peptidomiméticos de los receptores *scavenger* CD5 y CD6 como agentes profilácticos en hidatidosis experimental.

**González-Porcile C<sup>1</sup>, Miles S<sup>1</sup>, Iriarte A<sup>2</sup>, Mourglia-Ettlin G<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Área Inmunología - DEPPIO - Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

<sup>2</sup>Laboratorio de Biología Computacional - DDBP - Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

### Resumen

La hidatidosis es una zoonosis causada por el parásito cestodo *Echinococcus granulosus sensu lato*. En humanos, la remoción quirúrgica de quistes puede generar recidivas ya que las opciones terapéuticas existentes no ofrecen resultados óptimos. En este sentido, nuestro grupo reportó que la administración exógena de los ectodominios recombinantes solubles de los receptores *scavenger* CD5 y CD6 (rshCD5 y rshCD6) induce protección en el modelo murino de hidatidosis secundaria. Pósteriormente, observamos que ambas proteínas inducen inmunomodulación en ratones infectados y exhiben *in vitro* efectos antiparasitarios intrínsecos. En el presente trabajo se diseñaron *in silico* peptidomiméticos potencialmente capaces de replicar los efectos profilácticos inducidos por rshCD5 y rshCD6. Dichos péptidos se sintetizaron comercialmente con alta pureza y se optimizó su solubilización y almacenamiento. Luego, se analizaron sus actividades antiparasitarias intrínsecas mediante distintos sistemas de cultivo de protoscolecemas en presencia de concentraciones crecientes de peptidomiméticos. Afortunadamente, los peptidomiméticos ensayados exhibieron acciones antiparasitarias intrínsecas, aunque con diferencias en magnitud tanto entre ellos como respecto a sus proteínas de origen. Pósteriormente, se evaluó su biocompatibilidad con sistemas mamíferos realizando estudios de citotoxicidad sobre la línea murina de macrófagos RAW264.7 y ensayos de actividad hemolítica con eritrocitos murinos. Finalmente, se realizó un ensayo preliminar de protección en el modelo murino de hidatidosis secundaria obteniéndose resultados promisorios para aquellos peptidomiméticos derivados del receptor CD5. En suma, nuestros resultados preliminares sugieren que la acción profiláctica de rshCD5 en el modelo murino de hidatidosis secundaria podría ser replicada mediante el uso de peptidomiméticos sintéticos, lo cual abriría nuevas oportunidades para la prevención de potenciales recidivas quirúrgicas.

87

### Tipo de Presentación

Póster.

I027

**Effector and memory B cell responses in serodiscordant subjects for *Trypanosoma cruzi* infection.****Elias MJ<sup>1</sup>, Natale MA<sup>1</sup>, Albareda MC<sup>1</sup>, Marco JD<sup>2</sup>, De Rissio AM<sup>1</sup>, Alvarez MG<sup>3</sup>, Parodi C<sup>2</sup>, Cesar G<sup>1</sup>, López Albizu C<sup>1</sup>, Lococo B<sup>3</sup>, Laucella S<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Patología Experimental, Salta, Argentina. <sup>3</sup>Hospital Interzonal de Agudos Eva Perón, San Martín, Argentina.

**Resumen**

A proportion of subjects screened for *T. cruzi* infection have what is termed “discordant serology,” i.e., a positive result in only one out of three conventional serological tests.

Serodiscordant (SD) subjects have more functional *T. cruzi*-specific T-cell responses compared with seropositive subjects, suggesting that some subjects exposed to *T. cruzi* might eventually resolve the infection and developed T cell memory. Here, we have evaluated the presence of antibody secreting cells (ASCs) and memory B cells specific for *T. cruzi* and Leishmania antigens by B cell ELISPOT along with the phenotype of the total B cells compartment in serodiscordant, seropositive and seronegative subjects for *T. cruzi* infection.

Based on a cut-off value defined by the mean values of ASCs plus 2SD in uninfected subjects, none of the 16 SD subjects evaluated showed circulating ASCs specific for *T. cruzi* or Leishmania antigens whereas 24/29 subjects seropositive for *T. cruzi* had ASCs specific for *T. cruzi* antigens. In contrast, SD subjects had higher levels of *T. cruzi*-specific memory B cells compared with seropositive and uninfected subjects for *T. cruzi* infection. SD and uninfected subjects also showed higher levels of memory B cells specific for tetanus toxoid compared with seropositive subjects. No differences among groups were found for Leishmania-specific memory B cells. Sera from SD subjects showed low reactivity to *T. cruzi* by a commercial ELISA technique and a proportion of them also had low reactivity to Leishmania antigens using an in-house ELISA. The phenotype of total B cells in SD was not different from that found in uninfected subjects. These findings support that *T. cruzi*-specific antibodies in SD subjects did not appear to derive from an active infection but more likely reflect prior exposure to *T. cruzi* and the establishment of immunological memory suggestive of a resolved infection.

**Tipo de Presentación**

Póster.



I042

**Vaccination of cattle with recombinant proteins of *Babesia bigemina* elicits the production of merozoite-neutralizing antibodies.****Montenegro V<sup>1</sup>, Jaramillo Ortiz J<sup>1</sup>, Paoletta M<sup>1</sup>, Valenzano M<sup>1</sup>, Valentini B<sup>2</sup>, Wilkowsky S<sup>1</sup>**<sup>1</sup>IABIMO, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>INTA Rafaela, Rafaela Sanfa Fe, Argentina.**Resumen**

*Babesia bigemina* is tick-borne haemoprotozoan parasite of cattle that causes significant economic losses. Vaccination with attenuated strains is effective but it has disadvantages.

The aim of this study was to evaluate 3 antigens of *B. bigemina* administered separately and as a cocktail in bovines, the natural hosts of the parasite. To achieve this, truncated recombinant forms of these proteins called AMA-1, RAP-1 and TRAP-1 were obtained.

Bovines were immunized subcutaneously 4 times every 21 days with 100 µg of each recombinant protein plus Montanide ISA-61VG adjuvant (2 bovines for each antigen and the cocktail and 2 for the control group). 7 days following the final immunization, blood was obtained and the respective antisera were used for immunological assays.

In all groups, the different vaccination schemes induced high titers (between 2.6-3.8 Log<sub>10</sub>) of specific IgG antibodies in ELISA after the 4 immunizations. Western blot analysis against a *B. bigemina* whole merozoite lysate showed that bovine antibodies recognized the corresponding native proteins with the expected size, confirming that the relevant B-cell epitopes were conserved in all the immunogens tested. In this sense, all vaccine formulations were capable of inducing neutralizing antibodies that blocked in vitro merozoite invasion of bovine erythrocytes with values between 46.92-90.33%. Statistically significant differences were found among the immunization groups where antisera from bovines that received antigen cocktails had higher levels of neutralizing antibodies as shown by the strongest inhibition of parasite invasion. These results support our hypothesis of the use of different antigen combinations for complex organisms as *Babesia* sp. to achieve a greater inhibitory effect compared with the use of single antigens. Further protection studies including challenge in bovines would allow us to determine if any of these combinations tested here has a protective effect against clinical babesiosis.

89

**Tipo de Presentación**

Póster.

I043

## Estudio de las poblaciones celulares del sistema inmune durante la esplenomegalia crónica inducida por *T. cruzi* en ratones carentes de galectina 8.

Saborit JI<sup>1</sup>, Bertelli A<sup>1</sup>, Beccaria C<sup>2</sup>, Gruppi A<sup>2</sup>, Leguizamón MS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IIBio - UNSAM, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CIBICI - UNC, Córdoba, Argentina

### Resumen

Las galectinas son un grupo de lectinas que modulan la respuesta inmune tanto en eventos homeostáticos como patológicos. Previamente analizamos el papel de la galectina-8 (Gal-8) en la infección crónica por *T. cruzi* en ratones C57BL/6J (iWT) y carentes de Gal-8 (iGal-8KO). Tanto en tejido cardíaco como en el músculo esquelético se comportó como una molécula anti-inflamatoria. La sobrevida, parasitemia, y carga parasitaria tisular (evaluada por q-PCR) fueron semejantes entre ambos grupos. La esplenomegalia es similar durante la fase aguda, sin embargo, a partir de los 60 días post-infección (pi) los ratones iGal-8KO presentaron bazo con un tamaño significativamente mayor que los ratones iWT. A los 4 meses pi el peso promedio de los bazo de ratones iGal-8KO fue 0.604 g vs. 0.334 g en los iWT ( $p = 0,0021$ ). El análisis por citometría de flujo mostró un aumento significativo en el número absoluto de linfocitos T CD4 ( $p=0,0041$ ), CD8 ( $p=0,0073$ ), monocitos ( $p=0,0002$ ), células dendríticas ( $p = 0,0063$ ) y neutrófilos ( $p=0,0347$ ) en ratones iGal-8KO. Por el contrario, el número total de linfocitos B y de células T regulatorias fue similar. No obstante, esta última población presentó un aumento en la expresión de sus moléculas regulatorias CTLA-4 ( $p=0,0020$ ) y CD39 ( $p=0,0005$ ) en iGal-8KO. La proliferación analizada en cultivos de esplenocitos reveló un aumento significativo en ratones iGal-8KO. En concordancia, se detectó el aumento en la expresión de Ki-67 (marcador de proliferación) en CD4+ ( $p = 0,0003$ ) y CD8+ ( $p=0,0001$ ) de ratones iGal-8KO. Por otra parte, la población CD8+, que tiene una relevancia importante en el control parasitario, presento valores de índice de fluorescencia media para granzima B significativamente superiores en iGal-8KO respecto los iWT ( $p=0,0046$ ). Nuestros resultados muestran que los linfocitos CD8+ y CD4+ son las principales poblaciones responsables de la esplenomegalia observada en iGal-8KO, en un contexto pro-inflamatorio de una infección crónica.

### Tipo de Presentación

Póster.

I049

## The impact of etiological treatment in the B cell phenotype in adult and pediatric patients with chronic Chagas disease.

**Cesar G<sup>1</sup>, Natale A<sup>1</sup>, Albareda MC<sup>1</sup>, Alvarez MG<sup>2</sup>, Lococo B<sup>2</sup>, Castro Eiro M<sup>1</sup>, Bertocchi G<sup>2</sup>, White B<sup>3</sup>, Tarleton R<sup>3</sup>, Laucella S<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatała Chaben”, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>University of Georgia, Athens, USA

### Resumen

The goal of treatment in the chronic phase of *Trypanosoma cruzi* infection in humans is to prevent the development of heart disease and different routes of infection transmission. However, treatment in adult chronic patients is not widely used, mainly because of the slow decline in antibody titers following therapy that prevent an early assessment of treatment efficacy. In this study, we measured the phenotype of B cells in the circulation of adult and pediatric patients with chronic Chagas disease subjects before and after treatment with benznidazole. The phenotypical analysis of circulating B cells in *T. cruzi*-infected adult subjects showed increased levels of resting and activated naïve and atypical B cells but lower frequency of resting memory B cells compared with uninfected subjects. After 72 months of benznidazole administration in average, resting naïve declined regardless of the serological outcome but remained unaltered in untreated subjects. Activated naïve, activated memory and atypical memory B cells only decreased in subjects with declined antibody titers following benznidazole administration. Among untreated children, plasmablasts and atypical memory B cells were increased compared with uninfected children whereas activated naïve cells were decreased. At 36-48 months post-treatment, the levels of plasmablasts decreased, and the levels of resting memory increased in children who achieved a serological response to treatment but not in those with unaltered *T. cruzi*-specific antibodies. In summary, the total B cell phenotype returned to non-infectious status following treatment with benznidazole. The faster phenotype changes observed in *T. cruzi*-infected children compared with adults are in agreement with the fewer signs of immune exhaustion shorter-term infections.

91

### Tipo de Presentación

Póster.

I063

## El pretratamiento con 5-fluorouracilo aumenta la respuesta inmune generada por un candidato vacunal basado en la trans-sialidasa contra el *Trypanosoma cruzi*.

**Borgna E<sup>1</sup>, Prochetto E<sup>1</sup>, Gamba JC<sup>1</sup>, Lupi G<sup>1</sup>, Poncini C<sup>2</sup>, Vermeulen M<sup>3</sup>, Pérez AR<sup>4</sup>, Marcipar I<sup>1,5</sup>, Cabrera G<sup>1,5</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Inmunología Oncológica, Instituto de Medicina Experimental (IMEX-CONICET), Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>IDICER-CONICET and Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>5</sup>Facultad de Ciencias Médicas, UNL, Santa Fe, Argentina.

### Resumen

Previamente describimos un candidato vacunal contra el *Trypanosoma cruzi* basado en una fracción de la proteína trans-sialidasa (TSf) y el adyuvante ISPA. TSf-ISPA generó respuesta efectora, pero aumentó también esplenocitos con fenotipo CD11b+ GR-1+ en la etapa de inmunización. Dado que el pretratamiento antes de cada dosis de vacuna con 5 fluorouracilo (5FU), el cual depleta selectivamente células supresoras de origen mieloide CD11b+ GR-1+ (MDSCs), aumentó aún más la eficacia protectora de TSf-ISPA contra desafíos con *T. cruzi*, el objetivo de este trabajo fue caracterizar en la etapa de inmunización alteraciones causadas por el pretratamiento con 5FU. Se inmunizaron ratones BALB/c con 3 dosis de TSf-ISPA (grupo TSf). Además, un grupo recibió un pretratamiento con 50mg/kg de 5FU el día previo a cada dosis de vacuna (grupo 5FU TSf). El grupo control se trató con PBS (PBS). A los 7 días de la última dosis, los animales fueron sacrificados y se analizaron diversos parámetros, incluyendo citometría de flujo de esplenocitos CD11c, CD4 y CD8; marcadores de activación como CD44 y cultivo celular y análisis de la expresión de IFN- $\gamma$  en CD4 y CD8. El pretratamiento con 5FU aumentó el número absoluto (N abs) de esplenocitos de varias poblaciones, tales como CD11c+, CD4+, CD8+ y CD8+CD44+. Ej. N abs células CD11c+  $\times 10^6 \pm$  desvío estándar (DS): PBS: 1,7 $\pm$ 0,2; grupo TSf: 2,6 $\pm$ 0,5; grupo 5FU TSf: 3,3 $\pm$ 0,9,  $p < 0,05$ . N abs CD4  $\times 10^6 \pm$  DS: PBS: 7,5 $\pm$ 1,9; grupo TSf: 11,4 $\pm$ 4,9; grupo 5FU TSf: 15,5 $\pm$ 3,1,  $p < 0,05$ . N abs CD8+CD44+  $\times 10^6 \pm$  DS: PBS: 0,6 $\pm$ 0,1; grupo TSf: 0,8 $\pm$ 0,1; grupo 5FU TSf: 1,0 $\pm$ 0,1  $p < 0,05$ . Luego de cultivo, los animales pretratados con 5FU mostraron un aumento del % de IFN- $\gamma$  en células CD8+. % IFN- $\gamma$  en CD8+  $\pm$  DS. PBS: 2,76 $\pm$ 0,24; grupo TSf: 3,54 $\pm$ 0,3; grupo 5FU TSf: 4,3 $\pm$ 0,37,  $p < 0,05$ . Los resultados sugieren que el pretratamiento con 5FU potencia los cambios generados por el candidato vacunal TSf-ISPA, correlacionando con la mejor capacidad protectora observada contra *T. cruzi*.

### Tipo de Presentación

Póster.

I078

**Tratamiento con fármacos inmunosupresores y reactivación de la infección por *Trypanosoma cruzi*.****Piñero MB<sup>1,2</sup>, Marchetto M<sup>1,2</sup>, Repetto S<sup>1,2</sup>, Alba Soto C<sup>1,2</sup>**

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

**Resumen**

La inmunosupresión puede modificar el curso natural de la infección por *T. cruzi*. Aún así el riesgo de reactivación por el tratamiento con fármacos inmunosupresores no está del todo comprendido. El modelo experimental permite evaluar este riesgo y comprender algunos determinantes del proceso. En este trabajo, evaluamos la reactivación de la infección con *T. cruzi* en ratones con infección crónica luego del tratamiento (tto) con fármacos inmunosupresores convencionales.

Ratones BALB-c hembras en fase crónica de la infección con *T. cruzi* (120 dpi) fueron tratados con dosis crecientes (vía oral) de los fármacos: Leflunomida (LE; 10 y 20 mg/kg/día), Tacrolimus (TA; 3 y 5 mg/kg/día), Azatiopina (AZ; 2 y 10 mg/kg/día) y Micofenolato (MMF; 40 y 200 mg/kg/día). Se incluyeron ratones no infectados tratados y ratones infectados tratados con vehículo (CMC 1%). El monitoreo de la reactivación se realizó por cuantificación por gota fresca en veinte campos (40x). Se evaluaron peso y apariencia general de los animales y se cuantificó el número de leucocitos en sangre periférica.

El seguimiento por gota fresca hasta el día 47 post tto, no evidenció reactivación en los ratones tratados con LE y TA. A su vez, 3 de 5 ratones tratados con MMF y AZ aumentaron su parasitemia a partir del día 25 post tto para MMF y 39 para AZ, siendo las parasitemias acumuladas significativamente mayores con MMF (<0,05) respecto de los tratados con AZ y controles (CMC). El tto con LE y TA no causó una reducción significativa del peso (5,72% y 5,46% respectivamente) que sí se observó en los tratados con MMF y AZ (20,66% y 15,44%). El tto con TA y LE redujo el recuento de leucocitos en comparación con los controles, no así el tto con AZ y MMF.

El tto individual con MMF y AZ conlleva un riesgo de reactivación, siendo este mayor para MMF. Con LE y TA no se observó reactivación aún en las dosis altas. Estas diferencias podrían estar relacionadas con los diversos mecanismos de acción y/o efectos adversos.

**Tipo de Presentación**

Póster.

I081

***Trypanosoma cruzi* induce en linfocitos B la secreción de inmunoglobulinas de isotipo diverso y la expresión de factores relacionados a su diferenciación.**

**Somoza M, Bertelli A, Campetella O, Mucci J**

IIBIO, San Martín, Argentina

**Resumen**

Durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas, se observan niveles séricos elevados de inmunoglobulinas de diversos isotipos de cadena pesada y no necesariamente dirigidas contra el parásito. Esto se correlaciona con un importante incremento en las poblaciones linfocitarias, observándose esplenomegalia. A nivel histológico, ocurre una significativa expansión de los folículos (centros de proliferación B) como así también la aparición de múltiples focos extrafoliculares. A pesar de esta exacerbada respuesta B, el hospedador es incapaz de erradicar al parásito. Poco se conoce acerca de los mecanismos subyacentes que conllevan a estos fenómenos. En este trabajo demostramos que los tripomastigotes de *T. cruzi* son capaces de inducir la proliferación de linfocitos B vírgenes murinos purificados y la secreción de IL-6 e IL-10. Estos eventos se ven significativamente aumentados con el agregado de anticuerpos anti-CD40. En estas últimas condiciones, hemos observado la presencia de IgG en sobrenadantes de cultivo y la expresión de diversos isotipos de IgG en la membrana de los linfocitos B. Este incremento en la secreción de IgG es dependiente tanto de IL-6 como de IL-10, representando un posible mecanismo autócrino en nuestro modelo in vitro. A su vez, pudimos detectar la expresión de mensajeros de APRIL, BAFF e IL-21, reconocidos factores de supervivencia y diferenciación de linfocitos B. Finalmente, pudimos verificar que tanto IL-10 como IL-21 son expresadas en los linfocitos B de ratón en el curso de la infección aguda con *T. cruzi*. En síntesis, en este trabajo pudimos demostrar que los tripomastigotes son capaces de inducir en células B vírgenes, la expresión de factores relacionados con la supervivencia y diferenciación de estas células, como así también la secreción de IgG de isotipos diversos. Esto podría representar un mecanismo novedoso mediante el cual *T. cruzi* manipula las células B durante el curso de la infección, induciendo su expansión y diferenciación.

**Tipo de Presentación**

Póster.

I084

**Estrategia alternativa para estudiar la respuesta de células T CD8<sup>+</sup> específicas frente a la infección por *Trypanosoma cruzi*.****Biscari L<sup>1</sup>, Kaufman C<sup>1</sup>, Farré C<sup>1,2</sup>, Huhn V<sup>1</sup>, Pérez AR<sup>1,2</sup>, Alloatti A<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos, Rosario, Argentina**Resumen**

En la investigación de la respuesta inmunitaria inducida por vacunas o generada contra enfermedades infecciosas, reviste especial importancia la determinación de la respuesta de células T CD8<sup>+</sup> específica. Aunque en la actualidad existen diversas técnicas para este propósito, como el uso de tetrámeros específicos o ELISPOT, la técnica AIM (por sus siglas en inglés: Activation – Induced Marker assay) surge como un enfoque experimental más simple. En este trabajo, probamos el ensayo AIM para analizar la respuesta específica de células T CD8<sup>+</sup> anti-*Trypanosoma cruzi*, generada tras la infección de ratones C57BL/6 con la cepa Tulahuén de *T. cruzi*. Los animales fueron infectados por vía intraperitoneal con 5000 tripomastigotes de *T. cruzi*. A los 12 días de infección, los animales fueron sacrificados y se recolectaron los bazo y los ganglios linfáticos de los mismos. Los esplenocitos y las células de los ganglios linfáticos se incubaron durante 15 h con diferentes concentraciones de un péptido particular (TsKb20, derivado de la proteína Transialidasa, o PAR4, derivado de la proteína PAR4 del flagelo, de *T. cruzi*). Las células incubadas con Concanavalina A se usaron como control positivo. La respuesta específica de células T CD8<sup>+</sup> se determinó mediante citometría de flujo evaluando los marcadores de activación CD25<sup>+</sup> y CD69<sup>+</sup> en la población de células T CD8<sup>+</sup>. A través de un análisis ANOVA bifactorial, se encontró que la respuesta específica de células T CD8<sup>+</sup> para TsKb20 en animales infectados, medida después de la reestimulación con 50 µg/mL del péptido TsKb20, fue significativamente mayor que la respuesta medida en animales no infectados. No se evidenció diferencia en la respuesta específica de células T CD8<sup>+</sup> específica para PAR4. Estos resultados sugieren que la técnica AIM podría usarse para determinar la respuesta T CD8<sup>+</sup> anti-*T. cruzi*.

95

**Tipo de Presentación**

Póster.

I086

**Development of a novel bivalent antigen effective to control *Trypanosoma cruzi* infection.****Vázquez ME, Zabala B, Mesías AC, Parodi C, Pérez Brandán C, Acuña L**

Instituto de Patología Experimental, Salta, Argentina

**Resumen**

Chagas disease (CD) is a neglected and silent disease caused by a flagellar protozoan, named *Trypanosoma cruzi*, that affect over 8 million people around the world. CD is the principal cause of an infectious heart disease in the world. Nowadays, there is not an available vaccine for the CD prevention, but the research around vaccines development is improving. One of these new perspectives is the multi-component vaccine strategy. In this sense, we constructed a fusion protein based on two *T. cruzi* antigens with different goals. On one hand, the N-terminus Tc52 (N-Tc52) develops a humoral response, and in the other hand, an epitope of TS protein called TSKB20 possess immunodominance in cellular response against the parasite. N-Tc52 was amplified by PCR from *T. cruzi* CL Brener strain and subsequently reamplified to incorporate, with specific primers, two TSKB20 sequences in tandem. Next, this genetic construct was cloned into a bacterial plasmid, pRSET-A and finally, we expressed and purified the chimeric protein resulting (N-Tc52/TSKB20). No genomic mutations and its primary structure were confirmed. To prove the biological activity of this bivalent antigen, an immunization scheme in mice was diagrammed. Animals were inoculated with chimera protein plus a saponin-type adjuvant 3 times separated between 21 days. Blood was collected before each dose and 21 days after last dose when the half of animals were sacrificed, and spleens were taken to evaluate the immune response. The other half of mice were challenged with a lethal dose of *T. cruzi* trypomastigotes. Parasitemias were recorded twice a week for 25 days for assessed vaccine effectiveness. Lastly animals were sacrificed, and hearts, colon and muscle were taken to measure parasitic load. In brief, mice inoculated with chimeric protein were able to control parasitemias and reduce parasitic burden in target organs exhibiting an immune response against *T. cruzi* in comparison with controls.

96

**Tipo de Presentación**

Póster.



I089

**Development and immunogenicity assessment of a DNA-launched RNA replicon as vaccine platform against *T. cruzi* infection.****Delfino MA<sup>1</sup>, Trinitario SN<sup>1</sup>, Dzvonyk P<sup>1</sup>, Cardoso A<sup>1</sup>, Cerny N<sup>1</sup>, Malchiodi EL<sup>1</sup>, Bivona AE<sup>1</sup>, Tarleton RL<sup>2</sup>, Sánchez Alberti A<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Cátedra de Inmunología-IDEHU-FFyB, IMPAM-FMed, UBA-CONICET, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Center for Tropical and Emerging Global Diseases, Athens, GA, USA**Resumen**

Chagas Disease is a potentially life-threatening illness caused by the protozoan intracellular parasite *Trypanosoma cruzi*. It affects more than 6 million people worldwide, mainly in Latin America. Currently there is no effective vaccine to prevent or treat this infection. Nucleic acid-based vaccines are efficient type I response inducers and have proven effective to control intracellular pathogens. Considering this, we have developed a DNA-launched RNA replicon encoding Traspain, a *T. cruzi* chimeric antigen (DREP-Tp) and assess its immunogenicity in a murine model.

Firstly, employing a quality by design approach, an alphavirus-based DREP plasmid was developed employing in vitro DNA assembly tools. Its identity was confirmed by sequencing and restriction analysis. Antigen expression was detected by Western blot in transfected HEK293 cells lysates.

To evaluate its immunogenicity, a murine dose range study was conducted. Groups of C3H female mice were vaccinated by the intramuscular route. Each group received 3 doses of either 10 ug, 100 ug or 250 ug of naked DREP-Tp or PBS (placebo group). As benchmark, a group was immunized with 10 ug of recombinant Traspain combined with 50 ug of Cyclic-di-AMP adjuvant (CDA).

Exploratory bleedings were performed after each dose. Specific antibody titers were evaluated by ELISA and epitope specific (TEWETGQI+) CD8+ T cells were determined by dextramer staining. Specific antibody titers were detected only in Traspain-CDA group. Flow cytometry analysis showed that CD8+ TEWETGQI+ cells were present in all immunized mice groups. Percentages of these cells resulted similar among all DREP-Tp groups and showed a tendency to be higher than Traspain-CDA group.

In conclusion, a DREP platform was successfully constructed and resulted immunogenic inducing a strong Ag-specific CTL response even at low doses without the inclusion of adjuvants, highlighting its utility as a novel tool for studying the immune response against *T. cruzi* proteins.

**Tipo de Presentación**

Póster.

I093

## Fenofibrato modula la expresión de mediadores inflamatorios en CMSP y las subpoblaciones de monocitos en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.

**Pieralisi A<sup>1</sup>, Cevey A<sup>1</sup>, Penas F<sup>1</sup>, Prado N<sup>2</sup>, Mori A<sup>2</sup>, Gili M<sup>3</sup>, Mirkin GA<sup>4</sup>, Gagliardi J<sup>2</sup>, Goren N<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA (INBIRS)-CONICET., Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Hospital Municipal de Rehabilitación Respiratoria María Ferrer, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM)-CONICET, Buenos Aires, Argentina

### Resumen

La cardiopatía chagásica crónica es la manifestación clínica más importante de la infección por *Trypanosoma cruzi* (Tc). Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) se infiltran en el tejido y se diferencian a macrófagos inflamatorios. Avances en fisiopatología muestran que las subpoblaciones de células mieloides contribuyen a la homeostasis cardíaca, emergiendo como posibles dianas terapéuticas. En este trabajo investigamos la liberación espontánea de mediadores inflamatorios, los cambios en las frecuencias de los subconjuntos de monocitos (Mo) y los efectos del fenofibrato (Fen) en CMSP de pacientes crónicos asintomáticos (Asy) y con cardiopatía (CHD). Las CMSP se purificaron por Ficoll®, cultivadas y estimuladas o no con lisados de Tc (10µg/mL), y tratadas o no con Fen in-vitro (100µM). Las CMSP de CHD muestran niveles de ARNm más altos de IL-12, TGF-β, IL-6, MCP1 y CCR2 que los individuos no infectados (HI) o Asy (P<0,05). Fen reduce los niveles de mediadores proinflamatorios y CCR2 en Asy y en CHD (P< 0,05). Asimismo, en condiciones basales, los CHD mostraron un mayor porcentaje de Mo clásicos que Asy (p<0,05) y Asy un mayor porcentaje de Mo no clásicos que HI (p<0,05). La estimulación con Tc aumentó el porcentaje de Mo clásicos en Asy y Fen lo inhibió (p<0,05). También encontramos que Fen aumentó el porcentaje de Mo no clásicos en HI y Asy (p<0,05). Para evaluar la capacidad de reclutamiento de los Mo al lugar de la infección, evaluamos la expresión de CCR2 en Mo totales y en las subpoblaciones. Vimos que al estimular con Tc disminuyó el porcentaje de CD14<sup>+</sup> CCR2<sup>+</sup> (p<0,05) en HI, Asy y CHD, y Fen mostró una tendencia a restaurarlo. Además, evaluamos HLA-DR en dichas poblaciones. Fen no modifica la expresión de HLA-DR en ninguno de los grupos de pacientes estudiados. Estos resultados preliminares muestran que el Fen modula a las subpoblaciones de Mo hacia un perfil no-clásico y potencialmente reparador fundamentalmente en pacientes Asy.

98

### Tipo de Presentación

Póster.

I100

**Caracterización de la respuesta a glucocorticoides en células mononucleares de sangre periférica de individuos con miocardiopatía chagásica crónica.****González FB<sup>1</sup>, Pacini A<sup>1</sup>, Villar SR<sup>1</sup>, Leiva R<sup>2</sup>, Pérez AR<sup>1</sup>**<sup>1</sup>IDICER, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Servicio de Cardiología, Sección Chagas, Hospital Provincial del Centenario, Rosario, Argentina**Resumen**

La secreción de glucocorticoides (GCs) en respuesta a citocinas inflamatorias constituye un mecanismo regulatorio que inhibe la respuesta inmune. Los GCs ejercen su acción a través del receptor RG- $\alpha$ . Existe otra isoforma, RG- $\beta$  que es un inhibidor de RG- $\alpha$ . La expresión insuficiente de RG- $\alpha$  o la sobre-expresión de RG- $\beta$  podrían dar lugar a resistencia a GCs. A su vez, la enzima 11 $\beta$ -HSD1 cataliza la conversión de GCs de su forma inactiva a activa regulando su biodisponibilidad. Previamente, observamos que los pacientes con miocardiopatía chagásica crónica (MCC) presentan en circulación mayores niveles de citocinas inflamatorias. El objetivo de este trabajo fue estudiar en células mononucleares de sangre periférica (CMSP) si en estos pacientes existía algún grado de resistencia a GCs que produzca un desbalance en la regulación de la respuesta inflamatoria. Se estudiaron individuos control (Co, n=15) y con MCC(n=22). Los niveles séricos de GCs se evaluaron por IQL. En las CMSP se evaluó por RT-qPCR la expresión de RG- $\alpha$ , RG- $\beta$  y la 11 $\beta$ -HSD; también IL-6, IFN- $\gamma$  e IL-1 $\beta$  (genes regulados por GCs) y TTP (regulada por GCs e involucrada en la degradación del ARNm de genes inflamatorios). En los pacientes con MCC, los niveles de GCs se encontraron disminuidos ( $p<0.05$ ), la expresión de RG- $\alpha$  no difirió del grupo Co, mientras que la del RG- $\beta$  no fue detectable y la expresión de la 11 $\beta$ -HSD1 aumentó ( $p<0,05$ ). Los niveles de ARNm de IL-6, IFN- $\gamma$  e IL-1 $\beta$  tendieron a aumentar en el grupo MCC, mientras que se encontró una disminución en la expresión de la TTP ( $p<0,05$ ). La relación TTP/IFN- $\gamma$  y TTP/IL-1 $\beta$  se encontró disminuida en los pacientes con MCC ( $p<0,05$ ). Estos resultados, más correlaciones encontradas entre los mediadores estudiados, sugieren que en las CMSP se ponen en juego mecanismos tendientes a aumentar la respuesta a GCs que, sin embargo, no alcanzarían para controlar la respuesta inflamatoria.

99

**Tipo de Presentación**

Póster.

I103

**los efectos anti-inflamatorios de benznidazol en cardiomiocitos y macrófagos murinos están mediados por PI3Kδ CLASE I****Cevey AC<sup>1</sup>, Mascolo PD<sup>1</sup>, Penas FN<sup>1</sup>, Pieralisi AV<sup>1</sup>, Sequeyra AS<sup>1</sup>, Mirkin GA<sup>2</sup>, Goren NB<sup>1</sup>**<sup>1</sup>INBIRS, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>IMPAM, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina**Resumen**

Benznidazol (Bz), la droga de elección en muchos países para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, induce la eliminación de los parásitos en etapas tempranas de la infección y contribuye a la inmunomodulación. Además de sus efectos parasiticidas, Bz inhibe la vía NF-κB a través del eje IL-10/STAT3/SOCS3. PI3K regula el sistema inmune inhibiendo NF-κB a través de STAT3. En este trabajo estudiaremos la participación de PI3K en los efectos inmunomoduladores de Bz en un cultivo primario de miocardiocitos murinos y una línea celular de macrófagos (MΦ) murinos (RAW 264.7). Ambas poblaciones celulares serán estimuladas con LPS en presencia de LY294002, un inhibidor de PI3K. Bajo estas condiciones, Bz no aumentó la expresión de SOCS3 ni inhibió la expresión de NOS2 ni la liberación de NOx, en MΦ y RAW 264.7.

Los MΦ son cruciales en el desarrollo de la patología. Para profundizar en el conocimiento de los mecanismos de acción antiinflamatorios de Bz, evaluamos la expresión de marcadores M1-M2 de MΦ. Bz inhibió la expresión de citoquinas proinflamatorias y la liberación de NOx (M1) y aumentó la expresión de Arginasa 1, Receptor de Manosa, TGF-β y VEGF-A (M2). Además, aumentó la expresión de PPAR-γ y PPAR-α, conocidos reguladores de la polarización de MΦ.

PI3K regula directamente la polarización de MΦ hacia un perfil M2. Dado que p110δ, subunidad catalítica de PI3Kδ, se expresa en células inmunes, realizamos los ensayos en presencia del inhibidor específico CAL-101. Bajo estas condiciones, Bz no pudo ni inhibir el aumento de la expresión de SOCS3 ni inhibir la vía NF-κB. Asimismo, Bz falló en inhibir la expresión de proteínas proinflamatorias (M1) y en aumentar la expresión de marcadores M2.

Estos resultados demuestran, por primera vez, que el efecto antiinflamatorio de Bz depende de la actividad de PI3K, tanto en MΦ murinos como en un cultivo primario de miocardiocitos. Además, Bz aumenta la expresión de marcadores M2 de manera dependiente de p110δ.

**Tipo de Presentación**

Póster.

I112

## Niveles de citoquinas en sueros de mujeres embarazadas y su potencial uso como biomarcadores de la transmisión vertical del *Trypanosoma cruzi*.

**González C<sup>1,2</sup>, Milduberger N<sup>1,2</sup>, Tufo G<sup>1,3</sup>, Perrone A<sup>1</sup>, Bua J<sup>1,2,3</sup>, Bustos PL<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>INP "Dr. Mario Fatala Chaben" - ANLIS "C.G. Malbrán", Ciudad de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CAECIHS - UAI, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

### Resumen

La transmisión del *Trypanosoma cruzi*, agente causal del Chagas, de una mujer infectada a su bebé en gestación, es de gran importancia epidemiológica. Es la vía de diseminación del parásito que aún no logra controlarse, ocurre en todas las provincias de nuestro país y la que genera la mayor cantidad de casos nuevos, en ausencia de la transmisión vectorial.

Los aportes previos de nuestro laboratorio se concentraron en abordar esta problemática desde diferentes enfoques: cuantificando la parasitemia en madres y bebés, evaluando anticuerpos contra antígenos recombinantes y más recientemente, caracterizando el perfil inmunológico de bebés nacidos de personas infectadas. En un estudio preliminar, evaluamos los niveles serológicos de diversos mediadores involucrados en la inmunomodulación de la infección por *T. cruzi* durante el embarazo. Se observó que los niveles en suero de IL-15, IL-12p70, TNF- $\alpha$  e IL-17 y el cociente de TNF- $\alpha$ /IL-10 eran significativamente diferentes entre las madres que dieron a luz bebés con y sin infección por *T. cruzi*.

En este trabajo, nos propusimos evaluar si la cuantificación de esos biomarcadores podría contribuir a predecir el riesgo de transmisión vertical de la infección por *T. cruzi*.

Para ello, invitamos a participar del estudio a personas embarazadas que concurren a nuestra Institución para el diagnóstico de Chagas. A partir de las muestras de sangre preservada en guanidina-EDTA realizamos la cuantificación de la carga parasitaria por qPCR y en las muestras de suero, cuantificamos los mediadores inmunológicos mediante la técnica de ELISA.

Como perspectivas, esperamos evaluar la sensibilidad y especificidad diagnóstica con paneles de sueros. Luego de su validación, habremos logrado un inmunoensayo diagnóstico que podría transferirse al sistema de salud y contribuiría a alertar a una persona gestante infectada por *T. cruzi* acerca del riesgo de transmitir el parásito a su bebé.

### Tipo de Presentación

Póster.

## 2 - Biología Parasitaria

### BP016

#### Inhibición de la vía AMPc-Epac en la célula hospedadora como potencial tratamiento de la Enfermedad de Chagas.

Ferri G<sup>1</sup>, Fernández LR<sup>2</sup>, Edreira MM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UBA-IQUIBICEN-CONICET, CABA, Argentina. <sup>2</sup>UMYMFOR-DQO-CONICET-FCEN-UBA, CABA, Argentina

#### Resumen

Recientemente hemos demostrado que la activación de Epac1 en la célula hospedadora es requerida durante la invasión mediada por AMPc de *Trypanosoma cruzi*. En este trabajo, determinamos la participación de Rap1b como principal efector de Epac1 y evaluamos su posible empleo como blanco terapéutico. Mediante precipitación diferencial de Rap1b activo (Rap1b-GTP), detectamos una mayor activación de Rap1b en lisados de líneas celulares infectadas. Asimismo, observamos un aumento en la invasión de células transfectadas con la forma constitutivamente activa de Rap1b (G12V). A partir de una búsqueda bibliográfica encontramos que la vitexina, una flavona natural que protege contra el daño por isquemia-reperfusion, actuaría inhibiendo la expresión de las proteínas Epac y Rap1. En particular, plantas del género *Crataegus*, conocidas tradicionalmente como majuelo o espino blanco, resultan de gran interés debido a su uso altamente documentado como cardioprotectores. El análisis por HPLC-HRMS y MS<sup>2</sup> confirmó la presencia de vitexina en el extracto de *C. oxyacantha* (CO-EE), así como de otros flavonoides ya reportados para la especie. En células tratadas, el CO-EE produjo una inhibición en la invasión de *T. cruzi* asociada a una disminución de la activación de Rap1b, sugiriendo que el extracto actuaría de manera similar al inhibidor de Epac1, ESI-09, anulando la vía de señalización AMPc-Epac-Rap1b. Por otro lado, al utilizar CO-EE en conjunto con Nfx observamos una adición de los efectos sobre la invasión, confirmando que ambas drogas actuarían sobre blancos diferentes y abriendo la posibilidad de disminuir las dosis/tiempos del Nfx, lo cual contribuiría a evitar efectos tóxicos del mismo.

#### Tipo de Presentación

Póster.

**BP-021****Identificación de proteínas involucradas en el transporte de cobre en *Trypanosoma cruzi*.****Merli ML, Mediavilla MG, Cricco JA**

IBR-CONICET; FCByF– UNR, Rosario, Argentina

**Resumen**

*Trypanosoma cruzi* posee un ciclo de vida complejo que incluye procesos de adaptación a distintos hospedadores. Este parásito debe suplir su cuota de cofactores metálicos para garantizar su supervivencia y, además, presentar un control estricto sobre su importación, distribución intracelular y almacenamiento para evitar su toxicidad. Actualmente estudiamos el transporte y distribución de cobre (Cu) en *T. cruzi*. Como primera aproximación, realizamos curvas de crecimiento de epimastigotes en condiciones de estrés de Cu por exceso y por defecto, agregando quelantes de Cu. Se observó una disminución significativa pero no deletérea del crecimiento de los parásitos a elevadas concentraciones de CuSO<sub>4</sub> (mayores a 250 μM) y de quelante de cobre (mayores a 250 μM de BCS). Este amplio rango de tolerancia a los cambios en las [Cu], permite postular que el parásito presenta un mecanismo capaz de tolerar los excesos de Cu y garantizar su disponibilidad ante la disminución excesiva del mismo. Utilizando métodos bioinformáticos (TriTrypDB y herramientas asociadas) identificamos marcos abiertos de lectura que codificarían para proteínas con homología a transportadores y chaperonas de Cu. Entre ellas las proteínas putativas a Pic2, Sco1, Sco2, Cox11, Cox17 y Cox19 de mitocondria y 3 copias de una ATPasa de Cu de tipo P del sistema de endomembrana involucradas en la exportación de Cu. También se identificaron 6 copias de homólogas a ferro-cuprorreductasas de membrana que podrían estar involucradas en la reducción de Cu<sup>2+</sup> a Cu<sup>+</sup> previo a su importación. Pero no se identificaron posibles transportadores de membrana ni chaperonas citosólicas, que están conservadas en otros organismos, para la distribución de Cu intracelular. Con esta información diseñamos estrategias para validar la funcionalidad de estas proteínas homólogas por complementación en *S. cerevisiae*. En función de los resultados preliminares obtenidos postulamos que *T. cruzi* tendría una vía de incorporación de Cu no conservada.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP023****Microscopía de Expansión en *Trypanosoma cruzi* y su aplicación en el estudio de estructuras del citoesqueleto.****Compagnucci G<sup>1</sup>, Martínez Peralta G<sup>2,1</sup>, Alonso VL<sup>2,1</sup>**<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.<sup>2</sup>IBR-CONICET, Rosario, Argentina**Resumen**

La microscopía de expansión (ExM), es un método para mejorar la resolución de la microscopía óptica mediante la expansión física de una muestra, ha sido descrita para distintos tipos celulares, pero no ha sido reportada aún en *Trypanosoma cruzi*. Durante la ExM, una red de polímero hinchable (o hidrogel) se sintetiza uniformemente a lo largo de una muestra biológica. Luego, las muestras se someten a un proceso de ablandamiento y homogeneización mecánica, seguido de un proceso de expansión física tridimensional isotrópica cuando se agrega agua, lo que hace que el polímero y, por lo tanto, la muestra en la que el polímero está incrustado se agrande. Como resultado, las biomoléculas de interés se separan espacialmente entre sí y aumenta la resolución efectiva del microscopio.

Se realizó una búsqueda bibliográfica de los distintos protocolos disponibles en células de mamíferos y en los protozoos *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium ssp*, y *Trypanosoma brucei*. Luego se optimizaron las condiciones para lograr visualizar la expansión de epimastigotes de *T. cruzi*. Se utilizaron como marcadores: DAPI (marca nuclear), TcHMGB (proteína nuclear),  $\alpha$ -tubulina,  $\alpha$ -tubulina acetilada,  $\alpha$ -tubulina tirosinada y  $\beta$ -tubulina. Estos últimos marcan distintas estructuras del citoesqueleto de *T. cruzi*.

Observamos que la morfología típica de los epimastigotes se conserva durante el proceso logrando un factor de expansión de 4.5 veces. Analizamos la expansión del núcleo, kinetoplasto y cuerpo basal para confirmar la expansión de los epimastigotes midiendo su tamaño con el software ImageJ.

Estos resultados con permiten corroborar la utilidad de esta técnica para *T. cruzi* en especial para el análisis del citoesqueleto. También, se logró apreciar dentro del núcleo zonas con distinta intensidad de fluorescencia, lo que permite diferenciar zonas con distinta compactación de la cromatina sin tener que recurrir a microscopía de alta resolución.

**Tipo de Presentación**

Póster.



**BP024****Modelado molecular y ensayo enzimático para la determinación del efecto de inhibidores de diseño sobre la actividad de la enzima Adenilil Ciclasa 1 de *G. lamblia*.****Vega-Hissi E<sup>1,2</sup>, Garro A<sup>1,2</sup>, Enriz D<sup>1,2</sup>, Yaneff A<sup>3,4</sup>, Davio C<sup>3,4</sup>, Zurita A<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>UNSL, San Luis, Argentina. <sup>2</sup>IMIBIOSL-CONICET, San Luis, Argentina. <sup>3</sup>UBA, CABA, Argentina. <sup>4</sup>ININFA-CONICET, CABA, Argentina**Resumen**

Está descripto que los mecanismos de transducción de señales mediadas por AMPc en *G. lamblia* estarían relacionados con algunos de sus procesos de crecimiento y diferenciación adaptativa de este parásito intestinal. Recientemente, describimos que *G. lamblia* posee un mecanismo de síntesis y degradación de AMPc que incluye dos enzimas adenilil ciclasa (gAC1 y gAC2) y una fosfodiesterasa (gPDE). Estas enzimas poseen muy baja identidad (~30%) con respecto a sus homólogos en mamíferos, lo que, sumado a su importancia fisiológica, las convierte en blancos para el desarrollo de agentes farmacológicos específicos.

Con este objetivo en mente utilizamos la siguiente estrategia: a) Desarrollar un ensayo de actividad adenilil ciclasa *in vitro*. Para esto logramos clonar y purificar de bacteria el dominio catalítico de la enzima gAC1. Esta enzima demostró tener actividad adenilil ciclasa dependiente de Ca<sup>2+</sup> y Mn<sup>2+</sup> y resultó un excelente modelo para el testeo de inhibidores farmacológicos.

b) Desarrollar un modelo molecular de gAC1 *in silico*. A partir de la secuencia del dominio catalítico de gAC1, se logró generar un modelo molecular de la estructura terciaria de esta enzima.

En el presente trabajo mostramos primeramente los resultados de ensayos de inhibición enzimática de gAC1 en presencia de una batería de compuestos potencialmente inhibidores. Posteriormente, aquellos inhibidores con mayor actividad (2-catecol estrógeno y AMJ-47) fueron utilizados en análisis de "docking" y "dinámica molecular" con el modelo de gAC1.

Los resultados de estos ensayos *in silico* estuvieron en concordancia con los ensayos enzimáticos, lo que avalaría la robustez del modelo molecular de gAC1 generado. Más adelante, confiamos que la utilización de los ensayos *in silico* nos permitirán anticipar el comportamiento de nuevos inhibidores de gAC1 obtenidos por diseño, de los cuales seleccionaremos los mejores para su síntesis y evaluación en ensayos *in vitro* y/o *in vivo*.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP028****Sobreexpresión de alfa-tubulina en *Trypanosoma cruzi*.****Martinez Peralta G<sup>1,2</sup>, Alonso VL<sup>1,2</sup>, Serra E<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR), Rosario, Argentina**Resumen**

En este trabajo nos propusimos caracterizar la función de la  $\alpha$ -tubulina acetilada en la remodelación y el mantenimiento del citoesqueleto de *Trypanosoma cruzi* (agente causante de La Enfermedad de Chagas), un proceso de gran importancia durante los eventos de diferenciación celular que acompañan el desarrollo del ciclo de vida del parásito. Nuestro objetivo es estudiar la función de la acetilación de la lisina 40 de  $\alpha$ -tubulina de *T. cruzi* mediante su caracterización fenotípica. Para ello, utilizamos cuatro construcciones diferentes del plásmido correspondientes a la  $\alpha$ -tubulina salvaje y tres mutantes puntuales en el vector pTcINDEX-GW (permite inducir la expresión en *T. cruzi* por tetraciclina). Las construcciones se realizaron incorporando un epítotope de hemaglutinina (HA) en el extremo N-terminal de la secuencia codificante putativa para la  $\alpha$ -tubulina de *T. cruzi*. Las tres mutantes puntuales se consiguieron intercambiando la lisina 40 por: una arginina (K40R), una glutamina (K40Q) y una alanina (K40A). Estas construcciones fueron utilizadas para transfectar epimastigotes de *T. cruzi* y así obtener una línea estable para la versión salvaje. No pudimos detectar la sobreexpresión de la  $\alpha$ -tubulina exógena, pero si la del ARNm. A partir de estos resultados nos propusimos llevar a cabo nuevas transfecciones, pero incorporando el epítotope de HA en el extremo C-terminal en lugar del N-terminal. Tuvimos éxito obteniendo una línea estable que sobreexpresa la  $\alpha$ -tubulina para la versión salvaje, lo cual pudimos verificar a través de ensayos de western blot y de inmunofluorescencia con anticuerpos anti-HA. Por último, analizamos el crecimiento y la morfología de esta línea en presencia de tetraciclina. Para ambos casos se observaron alteraciones en condiciones de sobreexpresión de  $\alpha$ -tubulina exógena.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP030****Ivermectina induce muerte celular programada en *G. lamblia*.****Feliziani C, Barzola FN, Musso JR, Luna Pizarro G, Touz MC**

INIMEC-CONICET-UNC, Córdoba, Argentina

**Resumen**

*Giardia lamblia* es un protozooario parásito unicelular que causa una infección conocida como giardiasis, que puede ser asintomática o provocar una enfermedad aguda y en algunos casos crónica. La evidencia actual sugiere que la adaptación de este parásito representa un ejemplo extremo de evolución reductiva sin pérdida de función. Esta característica única de *G. lamblia*, sumada al hecho de que su genoma esté completamente secuenciado y que todo su ciclo de vida puede ser reproducido *in vitro*, la convierte en un modelo ideal para estudiar diferentes mecanismos celulares, entre ellos, la muerte celular programada (MCP). Recientemente, en nuestro laboratorio, utilizamos ivermectina (IVM), y observamos que tenía un efecto letal sobre los trofozoítos de *Giardia* a altas concentraciones. Debido a la escasa evidencia acerca de la existencia de un mecanismo clásico de MCP en este parásito amitocndriado, decidimos estudiarlo utilizando como herramienta IVM. Así, tratamos a los trofozoítos de *G. lamblia* con una concentración de IVM de 80  $\mu\text{M}$  e incubamos a las células durante 6, 12, 18 o 24 hs. A continuación, estas células se tiñeron con Anexina V (marcador de apoptosis temprana) y PI (ioduro de propidio; marcador de daño de la membrana, posiblemente apoptosis / necrosis tardía) y se chequeó la fluorescencia. Nuestros resultados sugieren que IVM podría inducir un mecanismo de apoptosis temprana a dosis no letales, determinado por la tinción con Anexina V y PI. Además, estos estudios nos permitirán valorar el uso de IVM como una droga contra la giardiasis, considerando que los tratamientos actuales no son totalmente efectivos y que la mayoría de los pacientes tratados con IVM no tienen efectos secundarios relacionados a la droga.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP033****Un nuevo, rápido y eficiente método de metaciclologénesis in vitro de Trypanosoma cruzi.****Perdomo V<sup>1</sup>, Boselli V<sup>2</sup>, Manarin R<sup>1</sup>, Serra E<sup>2,1</sup>**<sup>1</sup>Área Parasitología, FBioyF, UNR, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>IBR-CONICET, Rosario, Argentina**Resumen**

Durante su ciclo de vida, *T. cruzi* alterna entre hospedadores vertebrados (hombre) e invertebrados (triatominos). La metaciclologénesis (transformación de la forma epimastigotes a trypomastigotes metacíclicos) que ocurre en el triatmino, es un proceso esencial que capacita al parásito para la infección exitosa del hospedador vertebrado, y es gatillado por: estrés nutricional, contenido de hemo, procesos de adhesión, osmolaridad, pH, entre otros. Hasta el momento, el medio artificial TAU es el más utilizado para mimetizar el proceso de metaciclologénesis in vitro bajo condiciones químicamente definidas, sin embargo, resulta en bajas concentraciones de trypomastigotes metacíclicos cuando los parásitos han sido cultivados artificialmente durante largos periodos de tiempo. En el presente trabajo nos propusimos optimizar la metaciclologénesis in vitro utilizando diferentes condiciones de cultivo. Brevemente, epimastigotes de *T. cruzi* (cepa Dm28c) fueron mantenidos 7 días en fase exponencial de crecimiento a 28°C, medio LIT pH:7, 10% SFB. Pósteriormente, se cultivaron 12 días a 28°C con y sin agitación en: M16, LIT o TAU a pH: 4, 5 o 6 (Ci: 5.106 parásitos/ml), período en el que se cuantificó el porcentaje de metaciclologénesis. Los tripomastigotes metacíclicos obtenidos se utilizaron para infecciones de células Vero (MOI: 10:1, 24 hs). Al D4 y D5 p.i. se cuantificó la tasa de infección y liberación de trypomastigotes sanguíneos. Resultado: observamos mayores tasas de metaciclologénesis en epimastigotes cultivados en medio LIT y M16, pH:6 (LIT: 58±13; M16: 38±4; TAU:5±3), en un proceso dependiente de la adherencia del parásito al sustrato. En las mismas condiciones, la infectividad in vitro fue mayor, en relación al medio TAU (LIT:33±12, M16:26±2, TAU:2±1). Concluimos que los medios LIT y M16 (pH:6) son más eficientes y prácticos para ser utilizados en procesos de metaciclologénesis in vitro, que el tradicionalmente utilizado medio TAU.

108

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP035****Estudio de la metilación de la histona H3 y de la función de Histona metil-transferasa 2 en el parásito Giardia lamblia.****Díaz Pérez L<sup>1</sup>, Salusso A<sup>1</sup>, Patolsky R<sup>1</sup>, Ciborowsky P<sup>2</sup>, Touz MC<sup>1</sup>, Rópolo A<sup>1</sup>**<sup>1</sup>IMMF, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>UNMC, Omaha, USA**Resumen**

Giardia lamblia es un parásito unicelular que coloniza la superficie del epitelio del intestino delgado de animales vertebrados y que causa la enfermedad conocida como giardiasis. Su ciclo de vida se caracteriza por dos estadios: el trofozoíto, que coloniza el intestino y es responsable del cuadro clínico, y el quiste, que constituye la forma de resistencia y es eliminado en las heces del hospedador. La carencia de colesterol y un leve aumento del pH en los primeros segmentos del intestino grueso constituyen los estímulos necesarios para que el trofozoíto dispere la respuesta que induce su enquistamiento. La regulación epigénética del proceso de enquistamiento ha cobrado relevancia en los últimos años. En este sentido, nuestro grupo de trabajo se ha centrado en el estudio de la Histona Metil-Transferasa GLHMT2 durante el proceso de enquistamiento y de metilaciones en el dominio N-terminal de H3 a través de espectrometría de masa. De esta manera, observamos que tanto la sobre-expresión como el silenciamiento de GLHMT2 estaría influenciando de manera negativa el proceso de enquistamiento. A su vez los resultados de espectrometría de masa realizados en trofozoítos nos revelan marcas conservadas de metilación en residuos característicos de la H3 como las lisinas 4, 9, 27 y 36. Además, mediante microscopía de fluorescencia hemos podido observar que anticuerpos comerciales dirigidos contra marcas de mono, di y trimetilación de H3K4 y di y trimetilación de H3K36 producen marca nuclear. Por último, la utilización del inhibidor BRD-4770, específico de proteínas HKMTs, sobre células wild type en proceso de enquistamiento, nos revela una disminución significativa en la producción de quistes en la población celular expuesta al inhibidor. Esto abre nuevos interrogantes sobre el modo de regulación de expresión génica durante el proceso de diferenciación de este protista flagelado, pero sobre todo acerca de nuevas posibilidades que pueden ser aplicadas en el campo terapéutico.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP036****Características únicas de los subtelómeros de *Toxoplasma gondii*.****Contreras S<sup>1</sup>, Ocampo J<sup>2</sup>, Rivera M<sup>1</sup>, Cristaldi C<sup>1</sup>, Kamenetzky L<sup>3</sup>, Clemente M<sup>1</sup>, Vanagas L<sup>1</sup>, Angel S<sup>1</sup>**<sup>1</sup>INTECH, Chascomus, Argentina. <sup>2</sup>INGEBI, CABA, Argentina. <sup>3</sup>iB3, FBMC, UBA, CABA, Argentina**Resumen**

Los subtelómeros (ST) son regiones cromosómicas que separan los telómeros de la eucromatina y desempeñan varias funciones biológicas. En este estudio se identificaron y caracterizaron los ST de los 13 cromosomas de *Toxoplasma gondii*. Estos se definieron en los extremos cromosómicos en función de una baja densidad génica, enriquecimiento de H2A.X, H3K9me3 y H3.3 y la presencia de ADN satélital (mayoritariamente sat350), con longitudes desde 7,8 a 232,4 Kpb. La cromatina subtelomérica presentó marcadores H2A.Z/H2B.Z/H3K4me3 en los promotores activos, pero también se detectaron picos de H3K4me3 en los telómeros. En los promotores inactivos se observó un enriquecimiento de H3.3/H2A.X/H3K9me3. Se detectó lncARN TERRA en el brazo izquierdo del telómero VIIb. Se identificaron 13 genes funcionales anotados y 57 con función desconocida, ambos casos como genes de copia única con evidencias de transcripción de 92,3 y 42,1 respectivamente. Los ST también se encontraron asociados a las familias multigénicas FamB y FamC. Se detectaron ortólogos en *Neospora caninum* y *Hammondia hammondi*, aunque en *T. gondii* hubo una expansión genética, en el caso de FamC asociada a un fragmento de ADN de 15 Kpb. FamB y FamC presentan una estructura génica similar (2 exones), codificarían proteínas integrales de membrana con regiones conservadas y variables y en algunos casos con motivos repetidos. Todos los genes FamC mostraron evidencia de transcripción por RT-PCR. La proteína rTgC8 (FamC) se detectó en el lisado de *T. gondii* como una banda de 49 KDa con localización en la región apical. rTgC8 y rTgC6 reaccionaron débilmente con sueros de ratones y de individuos infectados. En conclusión, se identificó y caracterizó la estructura, cromatina, expresión génica y de lncRNA de los ST de *T. gondii* y la existencia de dos familias multigénicas que remiten a lo observado en *Plasmodium* o *Trypanosoma*. Sin embargo, el rol de las proteínas FamB y FamC de *T. gondii* requieren futuros estudios.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP039****El factor de diferenciación BFD1 se expresa en taquizoítos de la cepa RH de *Toxoplasma gondii*.****Bonardi MC<sup>1</sup>, Nájera R<sup>1</sup>, Cristaldi C<sup>1</sup>, Ganuza A<sup>1,2</sup>, Angel SO<sup>1</sup>, Vanagas L<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología Molecular, INTECH; UNSAM-CONICET, Chascomús, Buenos Aires, Argentina.<sup>2</sup>Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), Buenos Aires, Argentina**Resumen**

*Toxoplasma gondii* es un protozoo intracelular obligado de interés en salud humana y animal. Presenta dos estadios: *taquizoíto*, activo y *bradizoíto*, latente con formación de quistes. Recientemente se descubrió un factor de transcripción maestro, BFD1, el cual por sí solo sería capaz de inducir la diferenciación a bradizoíto en la cepa cistogénica Me49 en condiciones normales de cultivo. Aún en esas condiciones, su ARNm es transcripto lo cual sugiere que el control de su expresión es a nivel traduccional. La cepa virulenta, RH no genera quistes *in vitro* cuando es crecida en condiciones de diferenciación. Sin embargo, una de las mutantes RH generadas para la histona H2B.Z (intercambio de 5 lisinas acetilables por argininas) aumentó su tasa de diferenciación. Por ello, quisimos indagar si, en este caso, BFD1 está cumpliendo alguna función. Se estudió *in silico* el gen de interés (TGME49\_200385) y se diseñaron cebadores para detectar la expresión de BFD1 por RT-PCR a partir de RNA extraído de taquizoítos frescos. Dicha expresión se detectó en RH y RH mutante. Debido al gran tamaño de BFD1 (2258 aminoácidos), se eligió un fragmento de 126 aminoácidos que abarca los dos motivos Myb de unión al ADN. Dicho fragmento, se sintetizó y clonó comercialmente en un vector de expresión compatible con *E. coli* (pET 28 a+). Se ensayaron diversas condiciones de expresión y se purificó el fragmento de la proteína recombinante rBDF1myb en condiciones desnaturizantes. El mismo, se utilizó para inmunizar un conejo y el suero obtenido se evaluó por dot blot y Western-blot a partir de geles PAGE-SDS largos para detectar proteínas de alto peso molecular (BFD1 ~ 245,726 kDa). Se observó una banda específica del peso molecular esperado. Si bien se requieren más experimentos confirmatorios, este hallazgo indicaría que en parásitos RH crecidos en condiciones normales se expresa BFD1 sin que eso lleve a la diferenciación, lo cual implicaría otro/s componente/s que regula/n la diferenciación.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP044*****TcBDF6: una proteína imprescindible para la infectividad de *T. cruzi*.*****Boselli V<sup>1</sup>, Serra E<sup>1</sup>, Perdomo V<sup>2</sup>**<sup>1</sup>IBR, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>FCBYF, Rosario, Argentina**Resumen**

La acetilación de proteínas en residuos de lisinas, es una modificación postraduccional dinámica, que regula diversas funciones de las proteínas. El único dominio conocido capaz de reconocer lisinas acetiladas es el bromodominio (BD), que funciona como un andamio para el ensamblaje de complejos macromoleculares. En *Trypanosoma cruzi*, existen 7 secuencias codificantes con BD en *T. cruzi*: TcBDF1-7. Debido a que sus secuencias son muy divergentes y no pueden ser relacionados filogenéticamente con los BDs de mamíferos, podrían encontrarse inhibidores selectivos con potencial actividad tripanocida. Como objetivo de este trabajo nos propusimos generar mutantes de *TcBDF6* y evaluar su morfología, replicación e infectividad. Para ello, el gen codificante para *TcBDF6* fue interrumpido mediante la técnica de CRISPR-Cas9. Luego de varias rondas de selección, se seleccionaron mediante clonado, líneas mutantes heterocigotas (Dm28cBDF6<sup>-/+</sup>) y homocigotas (Dm28cBDF6<sup>-/-</sup>), lo que indica que se trata de una proteína no esencial para epimastigotes. Sin embargo, las líneas mutantes mostraron diferencias en cuanto al crecimiento y a la morfología de los epimastigotes, en comparación con los parásitos “wild type”. Ambas líneas produjeron tripomastigotes metacíclicos (TM) in vitro. Cuando se infectaron células Vero con TM Dm28cBDF6<sup>-/+</sup>, se produjo un atraso en el desarrollo de amastigotes y en la liberación de tripomastigotes, la cual comenzó el día 20 post-infección (en la cepa Dm28c ocurrió a los 7 días). Los tripomastigotes liberados mostraron diferencias morfológicas, pero infectaron células Vero de forma normal, liberando nuevamente tripomastigotes al día 7 post-infección. Por el contrario, los TM Dm28cBDF6<sup>-/-</sup> fueron completamente incapaces de infectar células Vero. Estos resultados sugieren que *TcBDF6* participa, en la infectividad y replicación intracelular del parásito, sugiriendo que podría llegar a ser un interesante blanco terapéutico para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

**Tipo de Presentación**

Póster.



**BP046****Patrones de motilidad en matrices de colágeno 3D de tripomastigotes de cepas de *Trypanosoma cruzi* con distintas características biológicas.****Cosenza M<sup>1</sup>, Alvarez B<sup>1</sup>, Masip YE<sup>1,2</sup>, Rodriguez ME<sup>1,3</sup>, Tekiel V<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO), Universidad Nacional de San Martín, San Martín, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Martín, Argentina.<sup>3</sup>Dept. Of Molecular Biosciences (MBW)/The Wenner-gren Institute, Stockholm University, Stockholm, Sweden**Resumen**

Con el fin de determinar si la motilidad de *T. cruzi* podría relacionarse con la virulencia del parásito, en este trabajo analizamos los patrones de motilidad de tripomastigotes de una cepa poco virulenta (K98) y otra virulenta (RA) en matrices de colágeno tridimensionales. Realizamos el seguimiento de aproximadamente 900 tripomastigotes por microscopía time-lapse (2 imágenes/seg durante 1 min) y el análisis manual con el software ImageJ/Plugin/ManualTracking. Los tripomastigotes fueron clasificados como: persistentes -movimiento rectilíneo-, intermitentes -alternan movimiento rectilíneo con cambio de dirección- o tumblers -se mueven en el lugar sin desplazamiento. La cepa K98 presentó un mayor porcentaje de tripomastigotes con motilidad tumbler (98%), mientras que RA presentó un porcentaje similar de tripomastigotes tumblers e intermitentes (42% y 45%, respectivamente). Sin embargo, al aislar subpoblaciones de la cepa RA mediante un ensayo de nado libre, observamos que la fracción con alta capacidad de nado se encontraba enriquecida en tripomastigotes intermitentes (71%) y persistentes (21%), mientras que la fracción con baja capacidad presentaba una alta proporción de tripomastigotes tumbler (73%). Luego desarrollamos algoritmos bioinformáticos para evaluar otros parámetros y pudimos determinar que el ángulo de giro entre dos puntos sucesivos en el tiempo es un potencial indicador del tipo de movimiento. Los tripomastigotes persistentes presentaban ángulos inferiores a 40°, mientras que los tumblers tenían ángulos superiores a 120°. Asimismo, generamos histogramas y gráficos que reflejan visualmente el comportamiento de estas poblaciones/cepas de *T. cruzi*. Concluimos que las velocidades, ángulos y el desplazamiento de los tripomastigotes son características del tipo de motilidad de los parásitos y no difirieron entre cepas ni en las subpoblaciones aisladas. Próximamente evaluaremos la virulencia de subpoblaciones de una misma cepa con distinto tipo de motilidad.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP050****Characterization of *Trypanosoma cruzi* lysine deacetylase enzymes and evaluation as potential targets for anti-parasitic drugs.****Sielecki AM, Campo VA**

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-UNSAM), San Martín, Argentina

**Resumen**

Chagas disease (or American trypanosomiasis), caused by *Trypanosoma cruzi* infection in humans, is a neglected disease in Latin America. The latest studies in anti-parasitic drugs have been focused in protein acetylation. This is a reversible reaction modulated by Lysine Acetyl Transferases (KATs) and Lysine Deacetylases (KDACs) enzymes. KDACs have been implicated in the modulation of the metabolic energy pathway and gene expression. In this regard, we have previously described the effect of KDACs inhibitors and activators in *T. cruzi* CL Brener strain. These drugs were able to produce global changes in the levels of acetylated histones, which showed to differentially affect the level of transcripts coding for proteins involved in differentiation and regulation of the cell cycle. Thus, we started to study the KDACs in *T. cruzi* (TcDACs) to determinate their role on gene expression and also it's potential as targets for repurposing the inhibitors or activators as anti-parasite drugs. We identified and isolated the coding sequences for the TcDACs from class I and II and quantified the transcript levels in each life stage forms in CL Brener strain. All transcripts are present in all parasite forms, with the highest level in amastigotes and epimastigotes. Also, we cloned each TcDAC coding sequence using GFP as reporter gene in the inducible system pTcINDEX, to analyze the phenotype of parasites over-expressing each enzyme in different strains. So far, we obtained stable transfected parasites populations for two different TcDACs class I genes (TcCLB.511911.159 and TcCLB.504159.80 with homology to *T. brucei* HDAC1/KDAC1 and HDAC2/KDAC2, respectively). In Dm28c, RA and Sylvio strains epimastigotes over-expressing TcKDAC1 have a perinuclear and cytoplasmic localization. We were able to over-express TcKDAC2 in Sylvio strain, showing a nuclear localization. Growth curves for each transfected population showed a slight delay in replication comparing to control wild type parasites.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP052****Posible rol de la palmitoilación proteica en la reparación del daño al ADN en *Toxoplasma gondii*.****Aparicio Arias AA, Corvi MM**

INTECH, Chascomús, Argentina

**Resumen**

Durante la infección aguda, *T. gondii* se replica a una alta tasa generando roturas de la doble cadena de ADN, las cuales deben ser reparadas en forma eficiente y precisa. En eucariotas superiores se ha descrito que la palmitoilación de ciertas proteínas estaría regulando el sistema de respuesta al daño del ADN, sin embargo, nada se sabe sobre el rol que tendría esta modificación postraduccional en este mecanismo en *T. gondii*. Nuestra hipótesis es que la palmitoilación de ciertas proteínas regula el mecanismo de reparación por recombinación homóloga (HRR) en *T. gondii*. Se realizaron estudios *in-silico* que indican varias proteínas asociadas al HRR estarían palmitoiladas, como sensores (RAD50), mediadores (BRCTs), transductores (ATM y ATR) y proteínas asociadas al ciclo celular (CHK2) y a la recombinación (BRCA2 y RAD54). Es de especial interés ATM, una quinasa clave que inicia el proceso de reparación del ADN y que activa el control del ciclo celular. Se ha descrito que la inhibición específica de ATM lleva a un bloqueo en la replicación de *T. gondii*, resaltando así su importancia en la biología del parásito. Esta quinasa estaría palmitoilada en varios sitios entre los cuales se encuentra el sitio catalítico. Para determinar el estado de palmitoilación de TgATM, se realizó un ensayo experimental en el cual se intercambian los posibles grupos acilos por biotina y se purifican las proteínas biotiniladas mediante una resina de neutravidina. Nuestros resultados sugieren que TgATM estaría palmitoilada y de este modo podría regular el mecanismo de reparación del ADN durante la fase aguda de la infección por *T. gondii*.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP054****Predicción de Cuadruplex de Guanina en Tripanosomátidos.****Miranda M<sup>1</sup>, Andino D<sup>2</sup>, Di Capua C<sup>2</sup>, Radio S<sup>3,4</sup>, Smircich P<sup>3,4</sup>, Cricco J<sup>2</sup>, Cribb P<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología Molecular, IDIM-UBA-CONICET, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Biología y Bioquímica de *Trypanosoma cruzi*, IBR-CONICET, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, IIBCE, MEC, Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica, UDELAR, Montevideo, Uruguay

**Resumen**

Los cuádruplex de guanina (G4) son estructuras secundarias formadas por tétradas de guaninas apiladas entre sí que pueden adoptar los ácidos nucleicos (ADN y ARN) regulando procesos biológicos como la replicación y la transcripción. En organismos patógenos se los ha asociado a mecanismos de virulencia. Dada la importancia de estas estructuras y la particular organización génica de los tripanosomátidos, el objetivo del trabajo es analizar la presencia de posibles secuencias formadoras de G4 (PQGs) en *Leishmania* spp., *Trypanosoma brucei* y *Trypanosoma cruzi*, y determinar si existe asociación entre los G4 y el control de la expresión de genes. Para ello, se realizó una búsqueda de PQGs en los genomas utilizando el programa libre QGRS Mapper y se evaluó la posible correlación entre el número de PQGs y el tipo de secuencia genómica, con particular atención en las regiones de cambio de hebra de inicio y terminación de la transcripción (SSRi y SSRs respectivamente) y en los ARNs policistrónicos (PGCs). En el caso particular de *T. cruzi*, también se analizaron los PQGs canónicos presentes en cromosomas homólogos de 3 cepas diferentes. Del estudio se desprende que *Leishmania* spp. presenta mayor densidad de PQGs en las SSRs; y dentro de los PGCs, en las regiones intergénicas; principalmente en la hebra molde. En *T. brucei* y *T. cruzi*, la densidad de PQGs no varía entre SSRs y PGCs, posicionadas con mayor frecuencia sobre la cadena codificante de las regiones intergénicas. Por último, los PQGs canónicos de los cromosomas homólogos de *T. cruzi*, localizan principalmente en la cadena codificante de las regiones intergénicas, y dentro de éstas, en los UTRs. El 80% están conservados en las tres cepas analizadas. Estas observaciones sugieren que los G4 están presentes en los tripanosomátidos y que podrían cumplir un importante rol en el procesamiento del ARN policistrónico y/o en la regulación de la traducción, como así también en la terminación de la transcripción.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP058****Análisis comparativo de histonas y sus modificaciones post traduccionales en tripanosomátidos.****Vela VS<sup>1</sup>, López MDR<sup>1</sup>, Kamenetzky L<sup>2</sup>, Alonso GD<sup>1</sup>, Ocampo J<sup>1</sup>**<sup>1</sup>INGEBI, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>IB3/FBMC/FCEN/UBA, Buenos Aires, Argentina**Resumen**

Los tripanosomátidos son un grupo de parásitos causantes de enfermedades en animales y humanos que incluyen a los TriTryps: *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei* y *Leishmania* spp.

Las histonas son proteínas muy conservadas evolutivamente y gran parte de sus modificaciones post traduccionales (MPTs) y funciones también se conservan. Si bien los tripanosomátidos poseen las cuatro histonas canónicas (H2A, H2B, H3 y H4), la histona linker H1 e histonas variantes (H2Az, H2Bv, H3v; H4v sólo en *T. brucei*), sus secuencias son las menos conservadas entre los eucariotas.

En este trabajo realizamos una comparación minuciosa entre las histonas canónicas y variantes de los TriTryps con organismos modelo. Mediante un análisis de bases de datos de proteómica y de secuencias primarias, pudimos observar que la histona H4 se encuentra altamente conservada en todos los organismos, mientras que en el resto de las histonas hay características propias de los TriTryps y algunas únicas en *T. cruzi*. Sólo la histona H1 de *T. cruzi*, presenta un sitio fosforilable involucrado en la localización celular y compactación de la cromatina. H2Az, presenta 9 residuos acetilables en el extremo amino terminal de los TriTryp, donde K54 y K58, sólo se acetilan en *T. cruzi*. Las H3 de los TriTryps, son relevantes por ser blanco de MPTs que regulan el ciclo celular y carecen de un dominio KAPRKGL, altamente conservado en organismos modelo. A partir de un análisis filogenético observamos que las H3 y H3v de los TriTryps evolucionaron independientemente de las de organismos modelo. Por otra parte, comparando sus estructuras predichas con AlphaFold, encontramos que residuos claves de H3, como H3K76, presentan conservación estructural con residuos presentes en H3v pudiendo ser blanco de las mismas metiltransferasas.

Dado que las histonas de los TriTryps exhiben peculiaridades respecto a las de otros eucariotas su estudio presenta el potencial de abrir camino para el hallazgo de targets terapéuticos.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP060****Búsqueda de posibles factores que interactúen con la cromatina de *Trypanosoma cruzi* y análisis de potenciales SET metiltransferasas.****Carena S, Alonso GD, Ocampo J**

INGEBI, Buenos Aires, Argentina

**Resumen**

*Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas, posee un ciclo de vida en el que alterna entre el insecto hematófago *Triatoma infestans* y el mamífero hospedero, exponiéndose a cambios abruptos en su entorno. Para adaptarse, requiere de cambios en la expresión génica, regulando mayormente a nivel post transcripcional. No obstante, parte de la regulación está dada a nivel epigenético, mediante modificaciones post traduccionales (MPTs) de histonas. Dentro de los modificadores se encuentran las metiltransferasas SET -caracterizadas por poseer un dominio conservado formando un pseudoknot- que en *T. cruzi* aún no han sido estudiadas. En este trabajo realizamos una búsqueda de posibles factores que interactúan con la cromatina de *T. cruzi* e iniciamos la caracterización de proteínas con dominio SET. Identificamos 8 TcSets putativas (TcSET10, TcSET16, TcSET17, TcSET20, TcSET23, TcSET25, TcSET26 y TcSET27) de probable localización nuclear y confirmamos la conservación parcial del dominio SET prototipo. Sin embargo, 4 de estas (TcSET16, TcSET25, TcSET26 y TcSET27) carecen de residuos claves para la catálisis. Analizando sus estructuras predichas por AlphaFold, observamos que el pseudoknot está conservado en todas. Comparándolas con las ortólogas en *T. brucei* detectamos: una alta similitud de secuencia para la mayoría de las proteínas, y mediante alineamientos estructurales una semejanza estructural alta, siendo TcSET26 la excepción en ambos casos. Comparando con la estructura de la metiltransferasa humana SET7/9, encontramos que el sitio catalítico está espacialmente bien conservado en TcSET23 y TcSET20. Por otro lado, analizando datos de transcriptómica, observamos variación en los niveles de ARN mensajero de algunas TcSets en distintos estadios, sugiriendo un posible rol diferencial en su ciclo de vida.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP061****Estudio comparativo de la organización de la cromatina y su impacto en la expresión génica.****Zambrano Siri R<sup>1</sup>, Beati P<sup>1</sup>, Smircich P<sup>2</sup>, Alonso GD<sup>1</sup>, Ocampo J<sup>1</sup>**<sup>1</sup>INGEBI, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>IIBCE, Montevideo, Uruguay**Resumen**

Trypanosoma cruzi, Trypanosoma brucei y Leishmania major, usualmente conocidos como TriTryp, son causantes de enfermedades en animales y humanos. Se caracterizan por tener ciclos de vida complejos, alternando entre un hospedador mamífero y un insecto vector.

En este trabajo, realizamos un estudio comparativo de la organización de la cromatina y su impacto en la expresión génica, de los estadios presentes en el insecto. Para ello, utilizamos datos obtenidos mediante secuenciación profunda (MNase-seq y RNA-seq). En el caso de *T. cruzi*, optimizamos el análisis de la cepa híbrida CL Brener, resaltando la importancia de alinear los datos crudos al genoma completo. Además, comparamos los alineamientos generados por Bowtie2 y Hisat2, encontrando que para análisis globales Bowtie2 es mejor, mientras que Hisat2 es más eficiente en asignar lecturas únicas. Dado que se ha reportado que en los TriTryp los nucleosomas se organizan en torno al sitio de trans-splicing (TAS), realizamos una predicción de los TAS más probables para los tres organismos y los usamos como punto de referencia para analizar la organización global de la cromatina. Observamos que *L. major* y *T. cruzi* presentan una menor densidad de nucleosomas en el TAS, en contraposición con *T. brucei* que presenta un leve aumento. Analizamos si habría relación con la composición de bases del ADN; pero fue muy similar entre *T. cruzi* y *T. brucei* y observamos mayores diferencias en *L. major*. Por otra parte, buscamos grupos de genes mediante k-means usando como variables predictoras los valores de densidad de nucleosomas y ARNm respecto al TAS. Los valores de silhouette obtenidos para nucleosomas fueron muy bajos, sugiriendo que la organización de la cromatina en torno al TAS es muy similar en todo el genoma. Del análisis de ARNm, obtuvimos un valor de silhouette alto al aplicar k=2 en *T. cruzi* o k=3 en *T. brucei* y *L. major*, indicando que hay dos o tres grupos de genes con patrones de expresión bien diferentes en los TriTryp.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP062****Inferring new gene regulatory networks in *Trypanosoma cruzi* based on multiple integrated data sources using bioinformatics analysis.****Sabalette KB, De Gaudenzi JG**

IIBIO-UNSAM, General San Martín, Argentina

**Resumen**

*Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease, mostly regulates protein synthesis by post-transcriptional events. These mechanisms involve RNA-binding proteins (RBPs) that bind to RNA sequences. Here we developed a computational pipeline to reliably predict RBP-RNA interactions in trypanosomes. Input: For this purpose, we integrated five published datasets containing more than 150 RNA motifs of *T. cruzi*. These motifs are: elements experimentally obtained by our lab (set i); predicted from metabolic pathways (set ii); derived from groups of RNAs co-expressed during parasite development (set iii) or upon hyperosmotic stress (set iv) or identified during the cell cycle progression (set v). Step1: Firstly, these RNA elements were used as a query to search for eukaryotic proteins with the ability to bind them according to TOMTOM motif analysis (<https://meme-suite.org/meme/tools/tomtom>, MEME suite). Using an FDR of 5%, heterologous interacting proteins were predicted by searching against the RNA compete database composed of 244 eukaryotic RBPs. Step2: In the second step, hundreds of highly similar *T. cruzi* proteins were identified as binders of the mentioned RNA motifs (sets i-v) by using the BLASTp program against trypanosome RBP databases. Step3: Next, the RPIseq prediction program (<http://pridb.gdcb.iastate.edu/RPIseq/>) was systematically run on all predictions obtained after the Step2 to select those trustworthy interactions that have binding probabilities >0.5 utilizing RF and SVM classifiers. Output: The results were displayed employing network graphs in R (<https://igraph.org/r/>), and examined using common network analysis parameters, to visualize connections among 72 RBPs that putatively interact with 60 RNA motifs (totaling 1053 different interactions). We consider that this novel trypanosome RBP-RNA catalog lays out the foundation required for further functional characterization of gene regulatory networks in the *T. cruzi* pathogen.

120

**Tipo de Presentación**

Póster.



## BP065

### Caracterización de un modelo de Chagas murino experimental utilizando la cepa Dm28c de *Trypanosoma cruzi* y ratones BALB/c.

**de Hernández MA<sup>1</sup>, Vargas Trinidad AS<sup>2</sup>, Villar S<sup>3</sup>, Cribb P<sup>2,4</sup>**

<sup>1</sup>FbioyF, UNR, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>IBR-CONICET-UNR, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>IDICER-CONICET-UNR, Rosario, Argentina. <sup>4</sup>Área Parasitología, FbioyF, UNR, Rosario, Argentina

#### Resumen

En el estudio de la enfermedad de Chagas, se han utilizado diversos modelos murinos experimentales de infección con *Trypanosoma cruzi*, su agente causal, mostrando una gran variabilidad entre diferentes cepas, unidades discretas de tipificación (DTUs) y líneas de ratones. Nuestros antecedentes se basan en estudios moleculares e *in vitro* con la cepa de *T. cruzi* Dm28c perteneciente a la DTU TcI pero no contamos con un modelo animal descripto, por lo que nos propusimos caracterizar el curso de la infección en ratones BALB/c con la cepa Dm28c, para luego utilizar también líneas transfectantes de parásitos derivadas de ésta. Se infectaron 24 ratones BALB/c con 1000 tripomastigotes/ratón de *T. cruzi* provenientes de un modelo de infección *in vitro* de células Vero. Otros 6 animales fueron asignados como control no infectado (CNI). Se sacrificaron animales a distintos días post-infección (dpi) (5, 7, 10, 14 y 21 dpi, n=3-4) y se evaluaron los siguientes parámetros: estado general del animal, parasitemia, cardiopatías, peso del bazo y sobrevida. La parasitemia se determinó por recuento de tripomastigotes en sangre y se optimizó un método de cuantificación por qPCR. El pico de parasitemia se observó en el día 14 pi. Se observó un aumento progresivo del peso del bazo desde el día 7 pi, alcanzando un máximo de unas 6 veces respecto al CNI a los 14 y 21 dpi. Los tejidos cardíacos presentaron cardiopatías difusas a partir del día 5 pi, volviéndose más intensas en los días 14 y 21 pi. También se hallaron nidos de amastigotes en los días 10, 14 y 21 pi. Pasado ese tiempo, los animales mantenidos para evaluar sobrevida fueron sacrificados (56 dpi), sin detección de parásitos en sangre, tejidos ni signos de infección según los parámetros analizados. La cepa Dm28c no resultó letal, pero generó parasitemias altas y alteraciones en los órganos estudiados que evolucionaron favorablemente tras el pico de parasitemia.

#### Tipo de Presentación

Póster.

## BP066

### Obtención de líneas celulares de *Trypanosoma cruzi* editadas genéticamente mediante CRISPR/Cas9 para el estudio de la proteína High Mobility Group B de *Trypanosoma cruzi*.

**Vargas Trinidad AS, Sensolini L, Cribb P**

IBR CONICET, ROSARIO, Argentina

#### Resumen

*Trypanosoma cruzi* es el protozoo parásito causante de la Enfermedad de Chagas, endémica en América Latina, y considerada una de las enfermedades desatendidas. Las proteínas High Mobility Group B (HMGB) son proteínas no histonas de la cromatina que se unen al ADN afectando su grado de compactación y así participan en la regulación de la expresión de genes y de otros procesos como la recombinación, la replicación y la reparación del ADN. Para estudiar la proteína HMGB de *Trypanosoma cruzi* (TcHMGB), se planteó como objetivo editar el genoma de *T. cruzi* e intentar obtener cepas mutantes *knock out* (KO) para TcHMGB y la proteína expresada con una etiqueta (“tagged”) de hemaglutinina (HA) mediante el sistema CRISPR/Cas9. Para esto se construyeron plásmidos para expresar la nucleasa Cas9 y un ARN guía que dirige la enzima al sitio de corte deseado (pTREX-Cas9/sgRNA-TcHMGB) y se diseñaron y obtuvieron por PCR fragmentos de “ADN *donor*” para favorecer la reparación del ADN mediante recombinación homóloga introduciendo secuencias de resistencia para la selección de los transfectantes. Se cotransfectaron epimastigotes de *T. cruzi* Dm28c con el plásmido pTREX-Cas9/sgRNA-TcHMGB y ADN *donor* correspondiente para cada estrategia de edición (KO y *tagged*) y luego de 5 semanas, se seleccionaron parásitos resistentes a los antibióticos utilizados en cada caso. Se confirmó la ausencia del gen, en el caso del KO, y la presencia de la etiqueta de HA en el *tagged* por PCR, y se evaluó la expresión génica de *tchmgb* por qRT-PCR y la producción de la proteína TcHMGB por western blot. Finalmente, se evaluó el crecimiento de las cepas editadas comparando con cepas WT. La cepa KO, mostró una menor expresión de *hmgB* y un crecimiento enlentecido en comparación a la cepa WT. Estos resultados, junto a los obtenidos previamente confirman la importancia del control fino de los niveles de TcHMGB para la biología del parásito y permitirán continuar con el estudio del rol de la proteína TcHMGB.

122

#### Tipo de Presentación

Póster.

## BP067

### La infección por *Leishmania (L.) amazonensis* afecta parámetros reproductivos y fetales en ratones hembras.

**Ginevro PM, Sánchez MA, Germanó MJ, Salomón MC, Scelta J, García Bustos MF, Cargnelutti DE**

IMBECU CCT CONICET y UNCuyo, Mendoza, Argentina.

Correo electrónico de contacto: [pginevro@mendoza-conicet.gob.ar](mailto:pginevro@mendoza-conicet.gob.ar).

#### Resumen

La leishmaniasis comprende un grupo de enfermedades zoonóticas parasitarias causadas por protozoos intracelulares pertenecientes al género *Leishmania*. Poco se conoce sobre los efectos que esta parasitosis puede tener sobre los parámetros reproductivos y la gestación en humanos y en otras especies infectadas. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de la leishmaniasis cutánea crónica, causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, en parámetros reproductivos y fetales. Se aparearon 39 ratones hembra BALB/c en dos grupos: infectado (27) y control (12), previamente inoculadas con *L. (L.) amazonensis*, con machos sanos. Se analizaron parámetros clínicos durante los períodos pregestacional y gestacional. Las hembras fueron eutanasiadas en el día 19 de gestación, momento en el cual se pesaron y midieron los fetos y se registraron las reabsorciones embrionarias y las muertes fetales. Se observaron 5 muertes fetales y 3 reabsorciones embrionarias en el grupo infectado, sin observarse estas condiciones en el grupo control. Además, hubo una disminución en la fertilidad del grupo infectado en relación al grupo control (26,32% vs 50%). Por otra parte, el peso de la descendencia de madres infectadas fue menor que el del grupo control ( $1,019 \pm 0,035$  g y  $1,163 \pm 0,032$  g, respectivamente,  $p < 0,01$ ). Por último, la longitud fetal se redujo en el grupo infectado ( $3,71 \pm 0,05$  cm en el grupo control y  $3,40 \pm 0,06$  cm en el grupo infectado,  $p < 0,001$ ). Este estudio muestra que la leishmaniasis cutánea causada por *L. (L.) amazonensis* afecta los parámetros reproductivos y fetales en ratones.

123

#### Tipo de Presentación

Póster.

**BP068****A versatile CRISPR/Cas9 editing approach in *Trypanosoma cruzi*.****Vilchez Larrea SC<sup>1,2</sup>, Prego A<sup>1</sup>, Schoijet AC<sup>1,2</sup>, Llanos MA<sup>3</sup>, Alberca LN<sup>3</sup>, Bellera CL<sup>3</sup>, Gavernet L<sup>3</sup>, Talevi A<sup>3</sup>, Alonso GD<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>INGEBI-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>LiDeB, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata, Argentina

**Resumen**

Development of CRISPR/Cas9 as a tool for genomic edition brought a new perspective to the study of *Trypanosoma cruzi*, an organism usually reluctant to other gene editing technologies. Most often, epimastigotes are co-transfected with a single plasmid bearing both the gene for Cas9-GFP expression and a sequence to be translated into a single guide RNA (sgRNA), jointly with a lineal donor DNA encompassing a selection marker flanked by sequences homologous to the target gene. Here, we tested an alternative approach for the generation of Phosphodiesterase (PDE) *knockout* parasites. We obtained epimastigotes from Tul II strain stably expressing Cas9-GFP in the nucleus in all parasite stages, with no detrimental effects on epimastigote growth or differentiation nor on trypomastigote infection capability. These Cas9-GFP epimastigotes were co-transfected with the sgRNA + DNA donor pair, according to the intended gene target. sgRNA were obtained by *in vitro* transcription using a template DNA bearing the specific + scaffold sequence under a T7 promoter. To obtain the donor DNA we designed a “pre-donor” formed by a sequence including several restriction enzyme recognition sites flanked by 30-bp arms homologous to the sequence adjacent sgRNA annealing target. This “pre-donor” allowed to easily generate a variety of donor DNAs by cloning alternative selection markers. DNA extracts (boiling-preps) from 4-day post-transfection cultures were evaluated by PCR using “mixed” primer pairs: while one of the primers annealed to the target gene, the second primer annealed to a sequence in the donor DNA, allowing assessment of its correct insertion in the gene of interest. Advantages of this take on CRISPR/Cas9 edition include its versatility for choosing and switching between alternative selection markers and a quick and affordable generation of the components of the system and analysis of the transfected cultures, while possibly facilitating complementation assays on the KO lines.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP070****Potencial implicancia de la estructura primaria y secundaria de las isoformas Dot1 de *Trypanosoma cruzi* en su función diferencial.****López MDR<sup>1</sup>, Alonso GD<sup>2</sup>, Ocampo J<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Ingebi, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Ingebi, CABA, Argentina**Resumen**

El parásito *Trypanosoma cruzi* posee un ciclo de vida complejo, alternando entre el insecto vector, *Triatoma infestans*, y el mamífero hospedador. Durante esa alternancia sufre cambios a nivel morfológicos y metabólicos que requieren de una regulación génica precisa para adaptarse. Si bien la principal regulación es post transcripcional, puede modularla mediante modificaciones post traduccionales de histonas que alteran la cromatina y afectan la compactación del ADN. Entre los modificadores de histonas, *T. cruzi* cuenta con dos isoformas de las proteínas metiltransferasas Dot1 que poseen capacidad de metilar la lisina 76 de la histona H3. TcDot1a, responsable de mono y di metilar, y TcDot1b, principalmente, de tri metilar dicho residuo, actuando de forma secuencial. Un interrogante aún no respondido, es por qué el resto de los eucariotas sólo cuentan con una Dot1 que media las tres funciones mencionadas. Nuestra hipótesis es que la diversificación de función de TcDot1a y TcDot1b sería causada por diferencias a nivel aminoacídico o estructural en dichas proteínas, o por su capacidad diferencial de interactuar con otras proteínas necesarias para realizar su función.

En *T. brucei*, cuyas Dot1 están caracterizadas, se sabe que diferencias puntuales en la secuencia aminoacídica determinan la divergencia en función entre las parálogas. Para testear nuestra hipótesis comparamos la secuencia aminoacídica de las TcDot1 con las TbDot1 y corroboramos la conservación entre ortólogas sugiriendo las mismas implicancias de los cambios aminoacídicos. Además, realizamos la predicción de sus estructuras y observamos elevada conservación estructural entre las Dot1 de ambas especies. Por otra parte, al compararlas con los dominios Dot1 de organismos modelo observamos que Dot1a se asemeja más al de levaduras y Dot1b al de la humana tanto en secuencia como en estructura. Para poder corroborar experimentalmente parte de nuestras hipótesis, las hemos clonado en el vector inducible pTcIndex.

125

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP072****Cadenas de SUMO y su rol en la regulación de la diferenciación de *Trypanosoma brucei*.****Di Marzio LA, Iribarren PA, Alvarez VE**

IIBIO, Buenos Aires, Argentina

**Resumen**

*Trypanosoma brucei* es un parásito eucariota unicelular flagelado con un ciclo de vida complejo que involucra un hospedador mamífero y un insecto vector. Su estadio sanguíneo alargado, también llamado *slender*, se replica activamente en el hospedador mamífero y es capaz de limitar su crecimiento diferenciándose a un estadio preadaptado al insecto y no replicativo llamado sanguíneo corto o *stumpy*, asegurando así su sobrevivencia y transmisión. Pese a que este es el comportamiento habitual de los parásitos silvestres o pleomórficos, muchas cepas de laboratorio han perdido su capacidad de diferenciación a *stumpy* (cepas monomórficas), por lo que crecen descontroladamente matando al hospedador a los pocos días post infección. Dada la importancia de este proceso de diferenciación para la sobrevivencia del parásito es que muchos grupos de investigación se han dedicado a estudiar este mecanismo en detalle. En particular, en nuestro laboratorio estudiamos la SUMOilación, una modificación post traduccional reversible que involucra la unión covalente de la proteína SUMO a diversos sustratos. En el caso de *T. brucei* hemos visto, empleando un sistema de SUMOilación *in bacteria*, que la proteína *TbSUMO* es capaz de formar cadenas poliméricas. Así, nos propusimos evaluar la relevancia de las cadenas de *TbSUMO in vivo*, para lo cual generamos líneas transgénicas de parásitos incapaces de formar estas estructuras. Sorpresivamente, al realizar infecciones en ratones con la cepa monomórfica incapaz de formar cadenas de *TbSUMO* observamos parasitemias oscilantes y un aumento significativo en la sobrevivencia del hospedador. A su vez, parásitos obtenidos en el pico de parasitemia presentaron marcadores típicos del estadio *stumpy* y experimentos de diferenciación *in vitro* con cis-acetonitro mostraron una cinética de diferenciación acelerada. De manera conjunta, estas observaciones sugieren que las cadenas de *TbSUMO* podrían actuar como un regulador clave en el proceso de diferenciación a *stumpy* en *T. brucei*.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP074****Resolviendo el interactoma de los Factores con Bromodominio de Trypanosoma cruzi utilizando pTcTurboID-GW.****Rodriguez Araya E<sup>1,2</sup>, Serra E<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>IBR-CONICET, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>FCByF-UNR, Rosario, Argentina**Resumen**

Trypanosoma cruzi es el protozoo causante de la enfermedad de Chagas y poco se sabe sobre como lleva a cabo su regulación transcripcional. Dado que carece de promotores canónicos, la hipótesis principal sostiene que dicha regulación es llevada a cabo epigenéticamente. Uno de los reguladores epigenéticos más importantes son los factores con bromodominio (BDF), proteínas de arquitectura diversa que contienen un módulo de reconocimiento de lisinas acetiladas denominado bromodominio. Los complejos que forman los BDFs son esenciales para la regulación del epigenoma eucariota y no existe evidencia experimental sobre la composición de los mismos en T. cruzi.

Por otro lado, TurboID es una biotinil ligasa inespecífica capaz de biotinilar proteínas cercanas (< 10 nm), que luego pueden ser purificadas utilizando bolas recubiertas de estreptavidina e identificadas por espectrometría de masas (MS). Este proceso se conoce como marcado por proximidad y es complementario a la co-inmunoprecipitación seguida de MS.

En este trabajo, hemos diseñado y evaluado la funcionalidad del vector pTcTurboID-GW, regulable por tetraciclina. Este vector es integrable y está adaptado al sistema de clonado Gateway, simplificando la expresión de proteínas de fusión a TurboID en T. cruzi para realizar el marcado por proximidad de las mismas. Actualmente, hemos transferido las secuencias codificantes de BDF2, BDF4 y BDF5 (tres BDFs esenciales de este organismo); y la secuencia codificante para señales de localización nuclear que mantengan TurboID en el nucleoplasma y usar sus extractos purificados como control de biotinilación de fondo en los análisis de MS. Nuestros estudios indican que este vector es capaz de expresar las proteínas de fusión esperadas en T. cruzi, que su expresión es regulable por tetraciclina, que su localización subcelular es la esperada y que las fusiones son capaces de marcar por proximidad, demostrando que la tecnología es funcional en este protozoo.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP075****El extracto acuoso de *Tessaria absinthiodes* (Hook. & Arn.) DC. (Asteraceae) es efectivo contra *Leishmania amazonensis* in vitro.****Troncoso ME<sup>1,2,3</sup>, Germanó MJ<sup>1</sup>, García Bustos MF<sup>4</sup>, Arrieta VJ<sup>1</sup>, Gamarra-Luques C<sup>1,5</sup>, Cargnelutti DE<sup>1,5</sup>, Lozano ES<sup>1,5</sup>**<sup>1</sup>IMBECU-CONICET, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>FCEN-UNCUYO, Mendoza, Argentina. <sup>3</sup>FCMedicas-Universidad de Mendoza, Mendoza, Argentina. <sup>4</sup>IPES-CONICET, Salta, Marshall Islands. <sup>5</sup>FCM-UNCUYO, Mendoza, Argentina**Resumen**

Las leishmaniasis son un espectro de enfermedades causadas por la infección con patógenos protozoarios del género *Leishmania*, con un estimado de 2 millones de casos nuevos por año. Los parásitos de *Leishmania* se transmiten a un huésped mamífero a través de la picadura de una mosca de arena infectada. Las formas clínicas de la enfermedad (leishmaniasis cutánea, mucocutánea y visceral) dependen de las especies de *Leishmania* involucradas. En Argentina, afecta a la región norte del país con una incidencia que ha aumentado en las últimas dos décadas. Los tratamientos actuales para la leishmaniasis son insatisfactorios debido a la alta toxicidad asociada, el costo, la administración compleja y la aparición de cepas resistentes. Una estrategia en la búsqueda de nuevos compuestos es la detección de moléculas purificadas de fuentes vegetales. Hay más de quinientas especies de plantas en la provincia de Mendoza, para las cuales la "medicina folclórica" ha descrito varios usos para preservar y ayudar a la salud. *Tessaria absinthiodes* (Ta) se ha utilizado como agente astringente, antiinflamatorio y antidiarreico. Además, se han confirmado sus actividades biológicas contra diferentes microorganismos. Evaluamos el efecto del extracto acuoso (AE) de Ta (TaAE) in vitro en una línea celular de macrófagos infectadas con *Leishmania amazonensis*. Se plaquearon e infectaron  $2 \times 10^4$  células Raw 264.7 con  $1 \times 10^5$  promastigotes de *L. amazonensis*. Luego se trataron con diferentes concentraciones de TaAE (5, 10, 15, 25  $\mu\text{g/ml}$ ). Glucantime (MA, 60  $\mu\text{g/ml}$ ) fue utilizado como control positivo de tratamiento. Observamos que el tratamiento con TaAE disminuye, de manera dosis dependiente, el número de células infectadas a las 72 hs. Además, se observó una disminución del número de amastigotes en el citoplasma de las células infectadas. Estos efectos fueron similares a cuando se utilizó MA. Aunque deben realizarse muchos más análisis, TaAE podría ser considerado como un posible agente antileishmanial.

**Tipo de Presentación**

Póster.



BP076

**Pharmacological investigation of *Trypanosoma cruzi* phosphodiesterases as drug targets. Insight into target vulnerability.****Schoijet AC<sup>1</sup>, Prego A<sup>1</sup>, Vilchez Larrea SC<sup>1</sup>, Llanos MA<sup>2</sup>, Alberca LN<sup>2</sup>, Bellera CL<sup>2</sup>, Gavernet L<sup>2</sup>, Talevi A<sup>2</sup>, Alonso GD<sup>1</sup>**<sup>1</sup>INGEBI-CONICET, Ciudad Autónoma de Bs. As., Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas UNLP, Buenos Aires, Argentina**Resumen**

The intracellular cAMP and cGMP levels are regulated by cyclic nucleotide phosphodiesterases (PDEs), a group of specific cyclic nucleotide-degrading enzymes involved in the control of homeostasis. It is long been self-evident that increased knowledge of cyclic nucleotide signaling pathways can lead to the development of therapeutic agents against human diseases. The kinetoplastid PDEs are highly similar to most of the human homologs, which justifies the potential repurposing of PDE inhibitors as potential antiparasitic agents. Also, these PDEs are highly amenable to selective inhibition, due to small differences in their binding pockets. Correlating target engagement with in vivo drug activity remains a central challenge in efforts to improve the efficiency of drug treatment and discovery. Among other methods, cell-based washout experiments, in which the phenotypic consequences of target engagement are evaluated once drug is “removed” from the system, can provide direct insight into target vulnerability.

In this work, washout experiments were performed to test the effect of three commercial PDE inhibitors: Rolipram, Zaprinast and Vinpocetine. Post-washout infection inhibition was maintained for all inhibitors, but Vinpocetine showed the largest detrimental effect on *in vitro* *T. cruzi* infection experiments. This inhibitor also proved to be effective in trypomastigotes and amastigotes. As additional experiments in order to support target validation, we tested two other compounds from in silico studies, Terameprocol and Lasalocid. Both compounds showed to be effective at low concentrations in the amastigote stage in our experimental model. Finally, we evaluated the effect of both drugs on enzymatic activity using TcrPDEB2 and TcrPDEC recombinant *T. cruzi* enzymes. Both compounds showed activity inhibition at low concentrations. In summary, these results highlight the potential of PDEs as targets against Chagas’ disease.

129

**Tipo de Presentación**

Póster.

BP079

**Clonado y expresión de dos nucleasas tipo TatD de *Trypanosoma cruzi*, posibles factores de virulencia parasitario.****Drago SB, Leguizamón MS, Burgos JM**

IIBIO-UNSAM-CONICET, San Martín, Bs As, Argentina

**Resumen**

En los últimos años, la producción y liberación al medio de proteínas con actividad nucleasa ha sido asociada a la virulencia de diversos microorganismos, tanto procariontes como eucariontes. Entre otras funciones, estas enzimas son responsables de facilitar la liberación de los patógenos de las NETs (*Neutrophil Extracellular Traps*). Recientemente, se han descrito dos nucleasas tipo TatD como factores de virulencia en tripanosomas africanos. En relación a *Trypanosoma cruzi*, hemos descrito la liberación al medio de al menos dos proteínas con actividad nucleasa dependiente de Mg<sup>2+</sup> por parte de tripomastigotes y amastigotes de cepas de alta virulencia, como CL Brener, que no son detectadas en aislamientos de baja virulencia. En este trabajo presentamos el clonado y la expresión de las nucleasas TatD05 y TatD15 de CL Brener con características de tamaño y actividad similares a las halladas en tripanosomas africanos. El clonado y secuenciación de TatD05 y TatD15 de CL Brener presentó homología del 68 y 67% con respecto a las proteínas ortólogas de *T. brucei*, respectivamente. Además, en sus secuencias confirmamos la presencia de dominios TIM de unión a ADN, y de una región proteica propia de tripanosomatídeos, ausente en las TatD de *E. coli*. La producción de las proteínas recombinantes se realizó en el sistema pTrcHis y expresión en *E. coli* BL21 codon plus. La correcta expresión se comprobó mediante SDS-PAGE y Western blot.

130

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP080****Identificación de potenciales inhibidores de la NDPK1 de Trypanosoma cruzi.****Galceran F, Digirolamo F, Saye M, Reigada C, Rengifo M, Maciel B, Pereira C, Miranda M**

Laboratorio de Parasitología Molecular. IDIM-UBA-CONICET, CABA, Argentina

**Resumen**

Las nucleósido difosfato quinazas (NDPKs) son enzimas que participan en la homeostasis intracelular de nucleótidos di y trifosfato; son multifuncionales por estar involucradas en numerosos procesos claves para la supervivencia de las células. La TcNDPK1 es una isoforma canónica presente en Trypanosoma cruzi que participa en mecanismos de resistencia a drogas tripanocidas, posee actividad nucleasa, interviene en respuestas al daño al ADN y es secretada. Los tripanosomátidos, a diferencia del hospedador mamífero, no pueden sintetizar purinas de novo, convirtiendo al metabolismo de nucleótidos en un interesante blanco contra drogas donde las NDPKs juegan un papel crucial. En el presente trabajo, iniciamos la búsqueda de inhibidores de la TcNDPK1 mediante estrategias computacionales de reposicionamiento de drogas basadas en el ligando y en el receptor. Para ello, partimos de la estructura tridimensional de la TcNDPK1 (considerando especialmente aquellos residuos diferenciales entre ésta y su ortóloga humana), de inhibidores experimentales obtenidos de la bibliografía y de las bases de datos FDA y SweetLead ( $\approx 12\ 000$  medicamentos aprobados en todo el mundo). Los softwares utilizados fueron OpenEye, Vina y FRED. Como resultado obtuvimos más de 50 compuestos prometedores disponibles comercialmente de los cuales dos de ellos, nebivolol y telmisartán están siendo evaluados actualmente. Los resultados preliminares indican que el nebivolol sería un buen agente tripanocida ( $IC_{50} \approx 10\ \mu M$  para epimastigotes), inhibiendo el 50% de la actividad NDPK a  $\approx 250\ \mu M$ . Por su parte, el telmisartán tiene un efecto menor sobre la viabilidad de los epimastigotes ( $IC_{50} \approx 145\ \mu M$ ) e inhibe el 50% de la actividad a  $\approx 132\ \mu M$ . Los estudios continúan en curso.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP082****Caracterización de proteínas GTPasas pequeñas tipo Rab de *Trypanosoma cruzi*.****Parada-Puig R, Cámara M, Mucci J**

IIB-UNSAM CONICET, San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina

**Resumen**

*T. cruzi* presenta un sistema de secreción de proteínas que involucra al complejo de la vacuola contráctil (CVC). Hasta el momento, esta característica solo ha sido observada en el amebozoo *D. discoideum*. En el parásito, el CVC participa en el tráfico intracelular de importantes factores de virulencia como las *trans*-sialidasas (TS), las mucinas (MUC) y el antígeno TSSA-II. Como en otros eucariotas, parte del tráfico vesicular en *T. cruzi* está mediado por las proteínas GTPasas pequeñas Rab, y trabajos previos han demostrado que el transporte de TS depende específicamente de Rab11, una proteína residente del CVC. Sin embargo, no hay información respecto del transporte de MUC o TSSA-II, cuyo tráfico podría depender de otras proteínas Rab todavía no identificadas. Con el objetivo de caracterizar el tráfico de estas moléculas se identificaron 10 Rabs en el genoma de *T. cruzi*, correspondientes a ortólogos descritos en el CVC de *D. discoideum* o en el *post*-Golgi de *T. brucei*. Estos genes fueron subclonados en el vector pTEX, que permite la fusión N-terminal con la proteína GFP, y dichas construcciones fueron transfectadas en epimastigotes de la cepa Sylvio, obteniendo líneas estables. La sobreexpresión de *rab4*, *rab11*, *rab14*, *rab21* y *rab31* fue evaluada por WB y citometría de flujo, y su localización subcelular fue determinada a partir de inmunofluorescencias indirectas con marcadores previamente caracterizados. Paralelamente, se dio continuidad a la caracterización de *rab11*, determinando que su sobreexpresión aumenta la infectividad de los tripomastigotes de *T. cruzi* cepa CL in vitro, al compararlos con los parásitos WT. En estos momentos estamos analizando, por inmunomarcaje y citometría, la cantidad de TS y de otros factores de virulencia en la membrana de tripomastigotes. Esperamos que estos resultados permitan profundizar en el conocimiento de la biología de *T. cruzi* y puedan ser capitalizados para la identificación de nuevos blancos terapéuticos en contra del parásito.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP085****Estrategia molecular para la edición génica de la isoforma ROP5C<sub>1</sub> codificada en el locus polimórfico VIR1 de *Toxoplasma gondii*****Turowski V, Corvi M, Angel S, Ruiz D**

Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET), Chascomús, Argentina

**Resumen**

El desarrollo de la infección producida por *Toxoplasma gondii* depende en gran medida de las diferencias alélicas de los efectores que el parásito secreta en la célula hospedadora. Las cepas de *T. gondii* pueden ser clasificadas en tres linajes de acuerdo a su letalidad en ratones de laboratorio siendo las de tipo I altamente virulentas, las de tipo II de virulencia intermedia y las de tipo III avirulentas. Entre los mayores determinantes para la virulencia se encuentra el locus ROP5, también denominado locus VIR1, el cual consta de un grupo de 4 a 10 genes duplicados en tándem que codifican pseudoquinasas polimórficas localizadas en las roptrias del parásito. ROP5 junto a las quinasas ROP17 y ROP18 son inyectadas durante la invasión y bloquean la respuesta de defensa de la célula hospedadora permitiendo la replicación intracelular de *T. gondii*. Las isoformas virulentas de ROP5 (ROP5B<sub>1</sub> y ROP5C<sub>1</sub>), localizadas en la membrana de la vacuola parasitófora, inducen cambios conformacionales en las GTPasas murinas relacionadas a la inmunidad (IRGs) bloqueando su oligomerización y exponiendo residuos que son fosforilados por las quinasas ROP17 o ROP18, desactivando así la parte de los mecanismos de la inmunidad innata. A fin de avanzar en el estudio de cómo se establece y desarrolla la toxoplasmosis aguda, y con el objetivo particular de caracterizar la isoforma virulenta ROP5C<sub>1</sub>, se diseñó una estrategia para editar el gen de interés localizado en el locus VIR1. Utilizando la técnica CRISPR/Cas9 se establecieron líneas clonales de parásitos expresando la proteína ROP5C<sub>1</sub> fusionada al epítipo HA. Además, se obtuvieron parásitos con una versión mutada de la proteína ROP5C<sub>1</sub> en un residuo de cisteína con elevada probabilidad de ser modificado por palmitoilación. Este trabajo fue financiado con el subsidio PICT 2017-2488.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP090****Cyclic AMP-binding recombinant proteins from *Trypanosoma cruzi*.****Di Mario G<sup>1,2</sup>, Escalona JL<sup>1,2</sup>, Edreira M<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>QUIBICEN, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Dpto de Química Biológica, FCEN-UBA, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.**Resumen**

Cyclic AMP signaling have shown to be involved in *Trypanosoma cruzi* biology. However, little is known about the downstream effectors in this pathway in the parasite. Previous reports showed in *T. cruzi* genome several ORFs that possess cyclic nucleotide binding domains (CNBs), such as Protein kinase A (PKA). Although, it has been published that trypanosomatid PKA does not bind cAMP, unlike its mammalian counterpart. In order to increase knowledge about cAMP mediated pathways in *T. cruzi*, we have cloned and biochemically characterized several cAMP binding proteins of the parasite. At a bioinformatic level, several proteins were found in the parasite's genome. Five proteins with CNB, TcCLB.418221.20, TcCLB.510297.110, TcCLB.504449.30, those of three with unknown function, TcCLB.510879.50, a regulatory subunit of PKA and TcCLB.504153.20, a phosphoglycerate kinase were studied. *E. coli* expressed proteins and a cAMP-agarose resin were used in pulldown and displacement experiments, in order to evaluate cyclic nucleotide binding. Interaction assays were then performed using epimastigotes lysates from Y-strain. The eluted proteins were analyzed by SDS-PAGE in order to know molecular masses to build a protein-protein interactions network that will be further studied.

**Tipo de Presentación**

Póster.

## BP092

### **Análisis funcionales de perfiles de co-expresión génica de *Trypanosoma cruzi*.**

**Inchausti L<sup>1,2</sup>, Martín A<sup>3</sup>, Pérez-Díaz L<sup>2</sup>, Garat B<sup>2</sup>, Sotelo-Silveira J<sup>1,2</sup>, Smircich P<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

#### **Resumen**

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

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

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

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

En este contexto, hemos identificado varios grupos de genes co-expresados mediante el uso de diferentes metodologías de agrupamiento no supervisadas. Actualmente estamos optimizando estos métodos mediante el desarrollo de métricas que evalúen la agrupación funcional de genes conocidos y la consistencia funcional global de la red. Se está llevando a cabo el análisis de las características comunes de los genes en cada grupo.

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

#### **Tipo de Presentación**

Póster.

**BP097****Reposicionamiento de blancos: una estrategia interesante para encontrar drogas tripanocidas.****Ruiz MD<sup>1</sup>, Fraccaroli L<sup>1</sup>, Larocca L<sup>1</sup>, Balcazar D<sup>2</sup>, Lombardo E<sup>3</sup>, Carrillo C<sup>1</sup>**<sup>1</sup>ICT Milstein CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CEPAVE UNLP/CONICET, La Plata, Argentina. <sup>3</sup>CIPYP CONICET, Buenos Aires, Argentina**Resumen**

*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas. Dadas las limitaciones de los tratamientos actuales, nuevas terapias son urgentemente necesarias. Una estrategia muy interesante para ello es el reposicionamiento de blancos que compara blancos del patógeno con sus homólogos en humanos, en los que haya sido estudiada su interacción con drogas.

Daunorubicina (DNR) y doxorubicina (DXR) son antraciclinas, drogas antitumorales inhibitoras de la captación de policationes en células eucariotas. Nuestro grupo demostró que *T. cruzi* es auxótrofo para poliaminas y que el transportador TcPAT12 es esencial para obtener putrescina (PUT) desde el medio externo.

Nuestro objetivo es estudiar el efecto de las antraciclinas en epimastigotes de *T. cruzi* de la cepa Y WT (control) y en un modelo de sobreexpresión de TcPAT12. Las antraciclinas afectaron el transporte de PUT: DNR (50 $\mu$ M) inhibió el transporte en un 55% en la cepa control y 20% en la sobreexpresante, mientras DXR (50 $\mu$ M) presentó una inhibición menor. Este efecto fue específico del transporte de PUT, no afectando otros transportadores de características similares. Además, DXR y DNR afectaron la viabilidad de los epimastigotes en cultivo, con EC50 en el orden micromolar. Al comparar este efecto sobre organismos no auxótrofos de poliaminas, como *Phytomonas Jma* y *C. fasciculata*, observamos que *T. cruzi* es entre 10 y 100 veces más sensible, mostrando la relevancia de TcPAT12 en la acción de estas drogas. El índice de selectividad calculado en células VERO fue de entre 7 y 15 según la cepa y droga evaluada.

DXR y DNR tienen efectos también a nivel de estrés oxidativo, ya que disminuyen significativamente los tioles libres a las 6 hs de exposición en ambas cepas, cuantificados por el método de Ellman.

Concluimos que la búsqueda de drogas a través del reposicionamiento de blancos es una estrategia que resultó de utilidad para conocer uno de los targets de las antraciclinas en *T. cruzi*.

**Tipo de Presentación**

Póster.



**BP099****Effect of parasite and host factors on taenia crassiceps asexual multiplication, growth and survival.****García LCA, Pérez MG, Ancarola ME, Rosenzvit MC, Cucher MA**

Institute of Research on Microbiology and Medical Parasitology (IMPam, UBA-CONICET), School of Medicine, Buenos Aires, Argentina

**Resumen**

Zoonoses caused by cestode parasites are associated with poverty and deficient hygiene practices. In particular, cysticercosis caused by the metacestode larval stage (cysticercus) of *Taenia solium* is a neglected tropical disease prioritized by WHO to be eliminated by 2030. The most severe manifestation of the disease, called neurocysticercosis, is produced when cysticerci establish in the nervous system. Currently, there is a lack of in vitro models to study in detail this disease. Our aim was to identify the optimal in vitro culture conditions for the growth and asexual multiplication of *T. crassiceps* cysticerci, an experimental model for the study of cysticercosis.

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

In 1C cultures only medium C produced a significant increase in diameter ( $P < 0.01$ ), while in 10C cultures this effect was observed with all media ( $P < 0.001$  and  $P < 0.05$ ). In 1C and 10C, the highest increase in budding number was obtained with medium C (6.3-fold and 3.9-fold, respectively). Interestingly, in absence of host stimulus (medium A), 10C cultures produced a higher number of buds than 1C cultures. In the presence of medium B, heterogeneous results were obtained in all the conditions. Finally, parasites from cultures 1C and 10C showed high vitality in media C and D compared to the other media. These results show that both parasite density and culture medium influence the growth, asexual multiplication and survival of *T. crassiceps* in vitro and set the basis for the long-term in vitro culture of this *T. solium* model.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP105****Generación de cepas resistentes a metronidazol y albendazol de Giardia lamblia.****Pizarro G, Musso J, Feliziani C, Ropolo A, Touz MC**

Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra, Córdoba, Argentina

**Resumen**

Los fármacos más utilizados para combatir la giardiasis son los pertenecientes a la familia de los 5-nitroimidazoles, como el Metronidazol (MTZ), y los derivados de benzimidazoles, principalmente el Albendazol (ABZ). Aproximadamente el 20% de los pacientes no responden al esquema terapéutico tradicional debido a la generación de cepas resistentes, para las cuales no se dispone de tratamientos alternativos efectivos. Una idea interesante de la generación de aislamientos resistentes a fármacos antiparasitarios, es que se cree que ocurre espontáneamente en pacientes infectados, aunque también se puede generar in-vitro. Se ha informado que la transmisión intercelular de la resistencia farmacológica entre diferentes tipos de células tumorales se produce a través de vesículas extracelulares llamadas exosomas, lo que condujo a un mayor potencial de supervivencia, llevándonos a hipotetizar que los exosomas participan en la generación de aislados resistentes en el parásito intestinal Giardia lamblia. Para abordar esta idea, hemos generado, cepas WB1267 y GS/H7 (ambas infectan a humanos) resistentes a MTZ y a ABZ, siguiendo un protocolo de subcultivo en concentraciones subletales crecientes de cada droga. Aproximadamente un año después, se obtuvieron cultivos de WB1267 y GS/H7 resistentes a 7.7 mM y 6.7 mM de MTZ, respectivamente. De manera similar, las cepas WB1267 y GS/H7 fueron adaptadas sucesivamente para crecer bajo 0.21  $\mu$ M y 0.34  $\mu$ M de ABZ, respectivamente. Luego, los exosomas de los aislamientos resistentes WBmtz, WBabz, GSmtz y GSabz, fueron aislados y marcados de manera fluorescente con BODIPY-C5-Ceramida (verde) y BODIPY TR Ceramida (rojo), para visualización general de la membrana celular. Ensayos preliminares de co-incubación de los exosomas fluorescentes con cada cepa salvaje, mostraron que dichas vesículas eran internalizadas. Resta indagar si este evento puede inducir resistencia específica al MTZ y ABZ, como planteamos en nuestra hipótesis.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP106****TcBDF2, una proteína con bromodominio esencial de *Trypanosoma cruzi*.****Tavernelli L<sup>1</sup>, Pezza A<sup>1</sup>, Perdomo V<sup>1</sup>, Rodriguez Araya E<sup>1</sup>, Gabarro R<sup>2</sup>, Bambarough P<sup>3</sup>, Prinjha R<sup>4</sup>, Rioja I<sup>4</sup>, Cantizani J<sup>2</sup>, Peña I<sup>2</sup>, Calderon F<sup>2</sup>, Martín J<sup>2</sup>, Alonso V<sup>1</sup>, Serra E<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, FCByF-UNR, CONICET, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Global Health, GlaxoSmithKline, Madrid, Spain. <sup>3</sup>Molecular Design, GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, United Kingdom. <sup>4</sup>Immunology Research Unit, Research, R&D GlaxoSmithKline, Stevenage, United Kingdom

**Resumen**

Los bromodominios (BD) son pliegues estructurales conservados que unen residuos de lisina acetilados y funcionan como módulos de reconocimiento y unión, de complejos protéicos. Las proteínas con BD generalmente participan en la modificación de estructura de la cromatina asociada a cambios en la transcripción. *Trypanosoma cruzi* posee siete proteínas con BD, denominadas TcBDF1-7 y una putativa TcBDF8 recientemente detectada. Previamente demostramos que TcBDF2 es una proteína nuclear que se une a la Histona H4, con preferencia por las lisinas 10 y 14. Los intentos (3) de generar un mutante con el gene de *bdf2* eliminado mediante CRISP/Cas9 solo permitieron rescatar mutantes parciales *bdf2*<sup>+/-</sup>, sugiriendo que se trata de un gen esencial al menos en epimastigotes. La sobre expresión inducible, tanto de la proteína TcBDF2 como de una versión mutada en los aminoácidos esenciales para la interacción con K-ac (TcBDF2m), fue deletérea para el crecimiento de epimastigotes pero no afectó en forma significativa la infectividad de tripomastigotes. Por el contrario, la expresión de TcBDF2 redujo significativamente el crecimiento de amastigotes intracelulares y más significativamente aún la producción de tripomastigotes a partir de las células infectadas. Utilizando el dominio recombinante, se determinó que TcBDF2 se une a los inhibidores de BD Bromosporina e iBET152. Bromosporina ligada covalentemente a el fluoróforo AlexaFluorXX se utilizó para poner a punto un ensayo de competencia mediante medición de despolarización de fluorescencia, con el que se ensayaron 28.251 compuestos diseñados y sintetizados por la compañía GlaxoSmithKline. A partir de este primer "screening" 378 compuestos, que mostraron una inhibición superior al 37%, se analizaron en ensayos dosis-dependiente. De los 96 compuestos con mejores resultados seleccionaron 56 para ser analizados sobre células infectadas.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP110****Análisis comparativo por grupos de ortología de la composición proteica de vesículas extracelulares de parásitos platelmintos.**

**Ancarola ME<sup>1,2</sup>, Maldonado L<sup>1,2</sup>, García L<sup>1,2</sup>, Miles S<sup>3</sup>, Mourglia-Ettlin G<sup>3</sup>, Franchini G<sup>4</sup>, Kamenetzky L<sup>5</sup>, Cucher M<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET), UBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Área Inmunología, DEPBIO/IQB, Facultad de Química/Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. <sup>5</sup>iB3, Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología traslacional, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Buenos Aires, Argentina

**Resumen**

Los parásitos platelmintos son organismos multicelulares entre los que se encuentran dos clases con relevancia sanitaria: los cestodos y los trematodos. Estos parásitos son causantes de enfermedades crónicas debilitantes donde la interacción con el hospedero está mediada por diversos factores, como las vesículas extracelulares (VE). Las VE transportan diferentes tipos de moléculas como proteínas y ácidos nucleicos a otras células, incluyendo células del hospedero. Actualmente se está evaluando la identificación de proteínas transportadas por VE como blancos terapéuticos, candidatos vacunales o biomarcadores de diagnóstico. En el caso de las VE de platelmintos no existe un consenso general sobre el uso de una única base de datos para identificar las proteínas detectadas, por lo que los resultados publicados son heterogéneos, dificultando su comparación. Nuestro trabajo se enfocó en el análisis comparativo de proteínas reportadas en VE de parásitos platelmintos para identificar proteínas marcadoras de VE.

Para ello, se construyeron grupos de ortología (GO) a partir de los proteomas completos de helmintos parásitos y de vida libre, humano y ratón, y se seleccionaron aquellas especies de parásitos platelmintos que presenten al menos dos sets de datos de proteómica independientes. De esta forma, encontramos proteínas compartidas entre todas las especies analizadas como la proteína 14-3-3 y fosfoglicerato quinasa. Entre las proteínas compartidas por la mayoría de las especies detectamos actina, proteína de choque térmico 90 (HSP90), enolasa y proteínas de función desconocida (llamadas hipotéticas), que en algunos casos presentan pasos transmembrana.

En este trabajo comparamos el perfil proteico de VE de parásitos platelmintos e identificamos proteínas hipotéticas no caracterizadas funcionalmente que se detectan en las preparaciones de VE. Estas proteínas podrían estar involucradas en la interacción con el hospedero y/o ser empleadas como marcadores específicos.

**Tipo de Presentación**

Póster.

## BP116

### La maquinaria antioxidante de *Trypanosoma cruzi*, un blanco atractivo para nuevas quimioterapias.

**Gómez J<sup>1</sup>, Guarise C<sup>1</sup>, Cifuentes D<sup>2</sup>, Masone D<sup>3</sup>, Sosa MA<sup>1,4</sup>, Barrera P<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Histología y Embriología IHEM-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas. UNCuyo., Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Investigación en Tecnología Química INTEQUI-CONICET. Universidad Nacional de San Luis., San Luis, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Histología y Embriología IHEM-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas. UNCuyo, Mendoza, Argentina. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UNCuyo., Mendoza, Argentina

#### Resumen

El tratamiento actual de la enfermedad de Chagas genera graves efectos secundarios en los pacientes, esto justifica la búsqueda continua de fármacos alternativos. En este sentido, los compuestos naturales son atractivos de estudiar debido a su baja citotoxicidad. *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) presenta un exclusivo y efectivo sistema antioxidante, por lo que es un blanco atractivo para nuevas terapias. En nuestro laboratorio estudiamos el mecanismo de acción de un compuesto natural: Dehidroleucodina (DhL) que presenta un grupo  $\alpha$ -metileno el cual podría bloquear los grupos tioles de tripanotona o enzimas reductoras e inducir estrés oxidativo en el parásito. En este trabajo, estudiamos el mecanismo de acción tripanocida de DhL, centrándonos en la maquinaria antioxidante del parásito. Observamos que DhL afectó el crecimiento de *T. cruzi* (IC<sub>50</sub> 4  $\mu$ M), generó la producción de especies reactivas de oxígeno e indujo hinchamiento mitocondrial (indicador de estrés oxidativo). Para determinar si el grupo metilénico es responsable de la actividad tripanocida se incubó a *T. cruzi* con DhL más una molécula reductora y por otro lado se sintetizaron derivados químicos de DhL cuyas sustituciones químicas afectaron al grupo metilénico. Los resultados mostraron que glutatión bloqueó el efecto de DhL y los derivados presentaron menor efecto tripanocida. Por último, analizamos la posible interacción entre DhL/Glutatión y DhL/Tripanotona. Realizamos simulaciones de dinámica molecular atómica con Gromacs del orden de un microsegundo. Las moléculas de DhL, Tripanotona y Glutatión se parametrizaron utilizando LigParGen y Charmm-GUI. La función de distribución radial de las distancias entre DhL y Glutatión; DhL y Tripanotona no mostraron diferencias significativas. Concluimos que el grupo metilénico de DhL es importante para su mecanismo de acción y el estrés oxidativo generado en el parásito no sería consecuencia de una interacción directa entre DhL con glutatión o tripanotona.

#### Tipo de Presentación

Póster.

**BP117****Modelos trofoblásticos humanos para el estudio de la infección placentaria por *Trypanosoma cruzi*.****Apodaca S, Curto MDLA, Longhi SA, Schijman AG**

Laboratorio de Biología Molecular de la enfermedad de Chagas-INGEBI-CONICET, CABA, Argentina

**Resumen**

La transmisión transplacentaria es considerada la vía principal del pasaje del *Trypanosoma cruzi* desde la sangre materna al embrión, causante de Chagas congénito (cCh). Se ha propuesto, que diferentes genotipos de *T. cruzi* y su patogenicidad, virulencia y tropismo tisular como también factores placentarios juegan un rol importante en el riesgo de transmisión. Sin embargo, hay una vacancia de modelos que representen el entorno placentario humano, pues existen diferencias morfológicas con los modelos animales, así como con los cultivos celulares en monocapa (2D) por la limitada interacción célula-célula y con la matriz extracelular.

En este trabajo comparamos la infección en cultivos 2D de células Bewo (línea celular trofoblástica humana) de dos cepas de *T. cruzi* (K98 (UDT I) que no produce cCh en ratones y VD (UDT VI) aislada de caso cCh con tropismo placentario en modelo murino) luego de 3 h de contacto a multiplicidades de infección (MOI) de 10, 20, 50 y 100 y 1, 5, 10 y 20 parásitos/célula para VD y K98, respectivamente. A las 48 h post infección, las curvas mostraron que K98 es más infectiva que VD ( $5.07 \pm 1.52$  a  $48.5 \pm 9.4\%$  y  $1.7 \pm 0.2$  a  $25.1 \pm 4.3\%$  respectivamente, para las MOI analizadas).

Además, iniciamos la puesta a punto de un modelo tridimensional (3D) de cultivo de células Bewo. Se sembraron 3375, 1000 y 333 células por micropozo antiadherente de 800 y 400  $\mu\text{m}$  de diámetro utilizando el sistema 3D-PetriDish y se registró el diámetro de los esferoides. Para la condición de 1000 células por micropozo de 800  $\mu\text{m}$ , se observó un diámetro promedio de  $387.2 \pm 16.5 \mu\text{m}$  y  $481.9 \pm 18.5 \mu\text{m}$  luego de 3 y 5 días. Utilizando el LIVE/DEAD cell imaging kit, la superficie de los cultivos 3D mostró mayor número de células muertas a los 5 días por microscopía confocal.

La infectividad de VD y K98 en cultivos 2D muestra un comportamiento diferencial al observado en modelo murino, comportamiento que será comparado en los cultivos 3D, actualmente en proceso de estandarización.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**BP118****VPS32, a member of the ESCRT complex, modulates adherence to host cells in the parasite *Trichomonas vaginalis* by affecting biogenesis and cargo sorting of released extracellular vesicles.****Salas N<sup>1</sup>, Coceres V<sup>1</sup>, Santos Melo T dos<sup>2</sup>, Pereira-Neves A<sup>2</sup>, Maguire V<sup>1</sup>, Rodriguez T<sup>1</sup>, Sabatke B<sup>3</sup>, Ramirez M<sup>3</sup>, Sha J<sup>4</sup>, Wohlschlegel J<sup>4</sup>, de Miguel N<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>INTECH, Chascomús, Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Microbiologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz, Recife, Brazil. <sup>3</sup>Laboratorio de Biología Molecular e sistémica de Tripanossomatideos, Instituto Carlos Chagas, Fiocruz Curitiba, Parana, Brazil. <sup>4</sup>Department of Biological Chemistry, University of California, Los Angeles, USA

**Resumen**

*Trichomonas vaginalis* is a common sexually transmitted extracellular parasite that adheres to epithelial cells in the human urogenital tract. Extracellular vesicles (EVs) have been described as important players in the pathogenesis of this parasite as they deliver proteins and RNA into host cells and modulate parasite adherence. EVs are heterogeneous membrane vesicles released from virtually all cell types that collectively represent a new dimension of intercellular communication. The Endosomal Sorting Complex Required for Transport (ESCRT) machinery contributes to several key mechanisms in which it reshapes membranes. Based on this, some components of the ESCRT have been implicated in EVs biogenesis in other cells. Here, we demonstrated that VPS32, a member of ESCRTIII complex, contribute to the biogenesis and cargo sorting of extracellular vesicles in the parasite *T. vaginalis*. Moreover, we observe that parasites overexpressing VPS32 have a striking increase in adherence to host cells compared to control parasites; demonstrating a key role for this protein in mediating host: parasite interactions. These results provide valuable information on the molecular mechanisms involved in extracellular vesicles biogenesis, cargo-sorting, and parasite pathogenesis.

**Tipo de Presentación**

Póster.

## BP119

### Arquitectura y organización genómica del genoma nuclear y mitocondrial de *Trypanosoma cruzi*.

**Berná L<sup>1</sup>, Greif G<sup>1</sup>, Pita S<sup>1</sup>, Faral-Tello P<sup>1</sup>, Alvarez-Valin F<sup>2</sup>, Robello C<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institut Pasteur Montevideo y UdelaR, Uruguay, <sup>2</sup>Unidad de Genómica Evolutiva, Facultad de Ciencias, UdelaR, Uruguay

#### Resumen

Las tecnologías de secuenciación de tercera generación han impulsado estudios para resolver la estructura y arquitectura de genomas complejos. En *T. cruzi* este desarrollo no solo ha permitido desentrañar el complejo genoma nuclear, sino que también han arrojado luz sobre la estructura real de los maxicírculos. La complejidad intrínseca del genoma, junto con la variabilidad entre cepas, ha puesto de manifiesto la necesidad de contar con varios genomas de calidad y así poder identificar la variabilidad genómica existente y estimar la diversidad evolutiva.

Con las secuencias obtenidas pudimos reconstruir el genoma completo de los maxicírculos de cepas representativas de la diversidad evolutiva de *T. cruzi*. Los maxicírculos tienen una arquitectura común compuesta por cuatro regiones: región codificante (CR), región rica en AT, repetido corto (SR) y repetido largo (LR). Se conserva la distribución de genes, tanto en orden como en su orientación, siendo las principales diferencias la presencia de deleciones que afectan genes que codifican subunidades de NADH deshidrogenasa, reforzando hallazgos bioquímicos que indican que el complejo I no es funcional en *T. cruzi*.

Realizamos estudios filogenéticos robustos que evidencian la historia evolutiva del complejo *T. cruzi*, el cual se organiza en dos grupos principales (1 y 2, que difieren de los previamente definidos grupos I y II), el primero compuesto con clados A (TcI), B (TcIII) y D (TcIV), y el segundo compuesto por el clado C (TcII), siendo las cepas híbridas del tipo BC (TcV, TcVI). Encontramos que existen tres tipos de maxicírculos: a, b y c, en correspondencia con los clados A, B y C, identificando que el clado D y las cepas híbridas presentan el maxicírculo b.

Finalmente, en todos los casos se mantiene la organización genómica en dos compartimentos, "core" y "disruptivo", siendo esta última variable en composición, con características que evidenciando posibles eventos de recombinación.

#### Tipo de Presentación

Póster.



### 3 - Diagnóstico y Tratamiento

#### DT006

#### **Cestodes' FABPs: Ligand-based virtual screening and drug repurposing from public libraries.**

**Rodríguez S<sup>1,2,3</sup>, Alberca L<sup>2,3</sup>, Fallico M<sup>2,3</sup>, Prada Gori D<sup>2,3</sup>, Franchini G<sup>1,3</sup>, Talevi A<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>INIBIOLP, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>LiDeB, La Plata, Argentina. <sup>3</sup>CONICET, La Plata, Argentina

#### **Resumen**

Echinococcosis and cysticercosis are listed among WHO's list of Neglected tropical diseases (NTD's), affecting people in tropical and subtropical areas. Echinococcus granulosus and Echinococcus multilocularis are the causative agents of cystic and alveolar echinococcosis, respectively, while Taenia solium is the parasitic agent involved in cysticercosis. In general, cestodes present an incomplete lipid metabolism lacking many enzymes involved in their biosynthesis, so they must obtain these molecules from their hosts. In this sense, Fatty Acid Binding Proteins (FABPs) have been proposed as essential for the life cycle of cestodes since they are relevant in the traffic and delivery of lipids.

Based on the target repurposing paradigm, we have generated ligand-based models to identify drug repurposing perspectives for the treatment of echinococcosis and cysticercosis. Taking into consideration the structural similarity between human and cestodes FABPs, we compiled from literature 288 compounds whose binding ability against human-aFABP had been experimentally established by fluorescence displacement assays. Compounds with IC50 values below 10  $\mu$ M were labeled as active and above 20  $\mu$ M as inactive, thus obtaining a dataset of 187 actives and 101 inactives. This dataset was then splitted into a training and a test set using iRaPCA clustering method.

We generated 3000 linear models from our training set using a combination of feature bagging and forward stepwise feature selection; these were validated using Leave Group Out cross-validation and Y-Randomization and tested against the test set. Moreover, we applied a selective ensemble learning approach to increase the predictive ability and robustness, as verified in retrospective screens performance.

The best model ensemble was applied in a virtual screening campaign of several public compound libraries, obtaining 106 silico hit compounds. These compounds will be tested in vitro against cestodes' FABPs isoforms.

#### **Tipo de Presentación**

Póster.

DT009

## Un algoritmo de drogabilidad aplicado al estudio de la enzima *Trypanothione Synthetase*.

Alice JI<sup>1,2</sup>, Rodríguez S<sup>1,2,3</sup>, Bellera CL<sup>1,2</sup>, Talevi A<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>LIDeB-UNLP, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, La Plata, Argentina. <sup>3</sup>INIBIOLP, La Plata, Argentina

### Resumen

*Trypanothione Synthetase (TryS)* es una enzima central en la regulación del flujo metabólico de los tripanosomátidos. Esto la ha convertido en un objetivo molecular interesante para la búsqueda de nuevos tratamientos tripanocidas. A pesar de haberse reportado para esta enzima un pequeño conjunto de moduladores, dos campañas consecutivas de cribado virtual con sus respectivas validaciones experimentales no se han podido establecer nuevos inhibidores más allá de los pequeños pool de compuestos ya reportados.

El descubrimiento de fármacos basado en el banco molecular requiere de un blanco molecular que sea clave en el desarrollo de la patología o, en este caso, para la viabilidad del agente infeccioso, pero que además pueda ser farmacológicamente modulable (drogable).

Presentamos aquí un algoritmo computacional que permite identificar la factibilidad de que un blanco molecular sea (o no) drogable. A partir de un set de 156 proteínas, y utilizando diferentes web serves que estiman drogabilidad, y descriptores del tipo CTD (*Composition, Transition and Distribution*) desarrollamos 1000 modelos computacionales capaces de predecir la capacidad de una proteína de ser modulada por pequeñas moléculas. El mejor modelo presentó, frente a un conjunto de testeo independiente de 66 proteínas, los siguientes valores de métricas *Accuracy*: 0,871, *Recall*: 0,848 y *precision*: 0,800. Este modelo se aplicó para evaluar la drogabilidad de la enzima *TryS* de *L. infantum* (IdPDB:2VOB). El *score* para esta proteína fue de 0,370. El valor sugiere que la enzima presenta cierta resistencia a la modulación farmacológica; en otras palabras, *TryS* sería difícil de modular farmacológicamente lo que explica los experimentos fallidos de cribado in silico.

### Tipo de Presentación

Póster.

## DT010

### Optimización de un Inmunoensayo de Flujo Lateral para Toxoplasmosis.

**Rubinowicz AR<sup>1</sup>, Peretti L<sup>1,2</sup>, Pujato N<sup>3,4</sup>, Miraballes I<sup>5</sup>, Peverengo L<sup>3</sup>, Marcipar I<sup>2,3,4</sup>**

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>INTEC (Universidad Nacional del Litoral y CONICET), Santa Fe, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>CCT CONICET Santa Fe, Santa Fe, Argentina, Santa Fe, Argentina. <sup>5</sup>BIOCLIN/IPTP. Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

#### Resumen

El objetivo de este trabajo es desarrollar Inmunoensayos de Flujo Lateral (IFL) para detección de Toxoplasmosis. El diagnóstico temprano durante el embarazo es crucial para evitar complicaciones. Si es negativo, se deben extremar las medidas de prevención para evitar adquirirla durante la gestación, mientras que si es positivo se debe discriminar si se trata de una infección aguda o crónica. Contar con dispositivos IFL que detecten anticuerpos anti-toxoplasmosis de tipo IgG e IgM resultaría de gran utilidad ya que son simples, rápidos, económicos y portátiles.

Se diseñó un test para detectar IgM específicas anti *Toxoplasma gondii*. En primer lugar, se sintetizaron partículas de oro (AuNPs) de aproximadamente 30 nm a partir de la reducción de Ácido cloroáurico con Citrato de sodio. Las AuNPs se conjugaron por adsorción pasiva a un anti-IgM<sub>hum</sub> hecho en cabra (anti-IgMhu/AuNPs). El conjugado se depositó sobre membrana Fusion 5 y sobre membranas de nitrocelulosa se dispensaron: i) para la línea control (LC) Ac anti-cabra que reconocerá a los Ac del conjugado; y ii) para la línea test (LT) Homogenato total de *T. gondii*. Los IFLs obtenidos se enfrentaron a pools de sueros negativos e IgM positivos. Se estudiaron diferentes estrategias en el ensayo, modificándose buffers de muestra, de pre tratamiento de membranas, concentraciones de muestras y reactivos, entre otros.

Las condiciones ambientales y los procesos de secado durante la fabricación son cruciales ya que afectan el fenómeno de capilaridad y el desempeño de los IFLs. Se logró estandarizar el manejo de dichas condiciones lo que se observa con el adecuado revelado de las LCs. Además, se logró la visualización de LTs al procesar muestras positivas, indicando que el test propuesto podría ser útil para la detección de IgM específicas. Sin embargo, resta optimizar las concentraciones de reactivos específicos para lograr señales de mayor intensidad y reproducibilidad en los resultados.

#### Tipo de Presentación

Póster.

**DT019****Limitaciones en la captación, diagnóstico y el tratamiento tripanocida en Centros de Atención Primaria de Salud de Santa Fe.****Suasnábar S<sup>1</sup>, Bizai ML<sup>1</sup>, Olivera V<sup>1</sup>, Arias E<sup>1</sup>, Nepote M<sup>2</sup>, Fabbro D<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Sobre Endemias Nacionales, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Programa Provincial de Chagas, Santa Fe, Argentina**Resumen**

Uno de los desafíos para el control y prevención de la infección por *Trypanosoma cruzi* es la captación, el acceso al diagnóstico y tratamiento específico. Objetivos: Identificar las barreras que limitan la detección de Chagas congénita, diagnóstico temprano en infecciones crónicas y administración del tratamiento en los Centros de Atención Primaria de la Salud (CAPS) de la ciudad de Santa Fe. Elaborar estrategias de abordaje integral.

Mediante un estudio exploratorio a través de encuestas online al personal de los CAPS se relevaron las dificultades que orientaron los talleres. Se respondieron 62 encuestas en 14 CAPS, (34% médicos generalistas, 18% pediatras, 16% enfermeras, 8% administrativos, 8% trabajadores sociales, y en menor proporción ginecólogos, cardiólogos, residentes médicos, etc.). Aspectos relevados: <50% conocían las normas nacionales en relación al tratamiento; la alternativa terapéutica es considerada en agudos y niños infectados y no es una opción en jóvenes y mujeres en edad fértil. A pesar de atender población migrante de área endémica, la serología para Chagas sólo es solicitada en embarazadas. 65% expresó ausencia de articulación entre especialidades médicas, dificultades en el trabajo interdisciplinario y burocracia para acceder a la medicación.

Se desarrollaron 13 talleres conducidos por profesionales del CIEN y Director del Programa Provincial de Chagas. Tuvieron participación activa 83 integrantes de los CAPS. Esta intervención logró motivar, fortalecer y empoderar a personal de los CAPS destacando la importancia del trabajo interdisciplinario. Se discutieron estrategias para la captación, diagnóstico, administración del tratamiento y vías de acceso a la medicación en la provincia.

La necesidad de la educación continua y actualización fue expresada en forma unánime por los profesionales de salud de los CAPS. Esto resulta esencial no solo para un adecuado manejo, prevención y control de la infección sino también para transmitirlo a la comunidad.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**DT020****Evaluación analítica del kit Tc Loopamp LAMP para el diagnóstico rápido de la infección por *Trypanosoma cruzi* empleando distintos sistemas de extracción a partir de muestras sanguíneas en diferentes soportes.****Longhi S<sup>1</sup>, García-Casares L<sup>1</sup>, Muñoz-Calderón A<sup>1</sup>, Koyano S<sup>2</sup>, Mori Y<sup>2</sup>, Wong S<sup>3</sup>, Pinazo MJ<sup>4,5</sup>, Alonso-Padilla J<sup>4,5</sup>, Schijman A<sup>1</sup>**<sup>1</sup>INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>EIKEN Chemical, CO, Tokio, Japan. <sup>3</sup>AI Biosciences, Inc., Station College, USA. <sup>4</sup>ISGlobal, Hospital Clínic – Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain. <sup>5</sup>CIBER de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Madrid, Spain**Resumen**

El control de la transmisión materno-fetal del *Trypanosoma cruzi*, causante de Chagas congénito (ChCg), es prioridad en salud pública. En los recién nacidos con ChCg, los medicamentos disponibles logran una alta tasa de curación si se administran a edad temprana. Alrededor del 50% de estos niños no se detectan al nacer debido a la baja sensibilidad (Se) de las técnicas parasitológicas o porque una gran proporción no regresa para la confirmación serológica a los 9 meses, por lo que es crucial diagnosticarlos a tiempo. Con el objetivo de implementar un diagnóstico temprano basado en la amplificación isotérmica mediada por asas (LAMP) adecuado para laboratorios mínimamente equipados, evaluamos la Se y especificidad (Sp) utilizando dos métodos de extracción de ADN simples a partir de muestras de sangre entera o en tarjetas FTA y Whatman 903 (W903) contaminadas con las cepas Silvio-X10 (Tc I) o CLBrener (Tc VI). Las condiciones óptimas se determinaron utilizando 20 muestras independientes para cada condición. El Límite de Detección LoD 95 se definió como la concentración de carga parasitaria más baja a la que 19 de 20 réplicas dan un resultado positivo de LAMP.

Según el tipo de muestra y la cepa analizada el LoD varió entre 5 a 20 par/mL utilizando el sistema Loopamp PURE para obtener el ADN parasitario, con una Sp del 100% para muestras de sangre en heparina o en FTA, y del 80% en W903. Un LoD de 5 par/mL y Sp de 85% se obtuvo para ambas cepas en sangre heparinizada utilizando el robot PrintrLab, modificado de una impresora 3D, con kit de extracción de ADN basado en partículas magnéticas. Contrariamente, por este método no se lograron resultados positivos con tarjetas FTA o W903.

En base a las condiciones probadas, observamos que el uso de sangre heparinizada congelada extraída por el sistema Loopamp PURE seguido de LAMP arroja resultados óptimos en términos de robustez, reproducibilidad, tiempo de procesamiento con valores adecuados de Se y Sp analíticas.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**DT022****Caracterización molecular de genes codificantes de enzimas nitroreductasas de *Trypanosoma cruzi* como biomarcadores de susceptibilidad a Benznidazol.****Muñoz-Calderón A, Schijman AG**

INGEBI-CONICET, Buenos Aires, Argentina

**Resumen**

La resistencia al tratamiento con Benznidazol (Bz) se ha asociado a variaciones en la susceptibilidad farmacológica *in-vitro* de aislados de *T. cruzi*, incluyendo variaciones genéticas de tres nitroreductasas involucradas en el procesamiento de los fármacos. Realizamos clonado por PCR y secuenciación de genes para nitroreductasas TcNTR-1, TcOYE y TcAKR en 30 cepas de *T. cruzi* de diverso origen epidemiológico y susceptibilidad al Bz, para evaluar su potencial como biomarcador de resistencia a fármacos. Las variantes aminoacídicas con mutaciones no sinónimas fueron agrupadas por frecuencia de aparición en la población parasitaria. Cada haplotipo fue modelado *in-silico* con software RAPTOR-X, para obtener la estructura protéica 3D. Se realizó un análisis de docking molecular (Dm) con la coenzima FMN y Bz, mediante el software CB-Dock y se utilizó el algoritmo de tipificación de secuencias de múltiples loci (MLSTest) para asignar las cepas a *clusters* específicos. Se encontró una identidad nucleotídica del 97.86%, 98.75% y 96.73% para TcNTR-1, TcOYE y TcAKR, respectivamente. No se encontró diferencia en el uso de codones entre unidades discretas de tipificación de *T. cruzi*. De las mutaciones no sinónimas de los tres loci menos del 1% se asociaron a sitios de unión a FMN o residuos catalíticos. El estudio *in-silico* de Dm mostró diferencias en la interacción del Bz con los residuos de interacción de los 11 haplotipos más frecuentes (4 TcNTR, 3 TcOYE y 4 TcAKR). El MLSTest mostró que los tres genes pueden discriminar un cluster TcI de otro TcII-IV-V-VI. Dentro de TcI el MLSTest logró distinguir cepas resistentes (Colombiana) de susceptibles (SilvioX10, Brazil4A y DM28c), lo que permitió caracterizar por primera vez y de forma parcial a poblaciones circulantes en 7 pacientes refractarios al Bz. Nuestro estudio permite proponer estos genes como biomarcadores potenciales para detectar poblaciones parasitarias menos susceptibles al Bz, que permitan formular terapias más efectivas.

150

**Tipo de Presentación**

Póster.

**DT026****Nuevas estrategias de ELISA para el diagnóstico de Chagas congénito mediante la detección de anticuerpos anti-SAPA en sueros de binomios bebé-mamá.****Olaguibe A<sup>1</sup>, Peverengo L<sup>1</sup>, Pujato N<sup>1</sup>, Ballering G<sup>2</sup>, D`Amico I<sup>2</sup>, Garcia L<sup>2</sup>, Jurado L<sup>2</sup>, Altcheh J<sup>2</sup>, Marcipar I<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica (FBCB-UNL), Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, IMIPP (Instituto multidisciplinario de Investigación en Patologías Pediátricas) CONICET-GCBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET, Santa Fe, Argentina

**Resumen**

La detección temprana de la enfermedad congénita de Chagas (ECc) es clave para el tratamiento antiparasitario eficaz y seguro. Sin embargo, las técnicas actuales tienen limitaciones que retardan los resultados, por lo que es necesario el desarrollo de nuevos y mejores métodos. Una estrategia reportada, consiste en un ELISA (ELISA SAPA) para la detección de anticuerpos (Acs) IgG contra el antígeno (Ag) de fase aguda de *T. cruzi* (SAPA) en binomios bebé-mamá (Bb-MM) y el cálculo de la relación entre las densidades ópticas obtenida ( $DO_{Bb}/DO_{MM}$ ), que permite discriminar los Acs propios del Bb de los adquiridos de la MM con infección crónica. Este método no ha resultado efectivo al ser aplicado a campo, por lo que en el presente trabajo proponemos dos estrategias novedosas para el mismo fin. La primera estrategia consistió en un ELISA (ELISA av. SAPA) para determinar la relación entre la avidéz de las IgG anti-SAPA del Bb con posible infección aguda (de baja avidéz) y las de su correspondiente MM (de alta avidéz). La segunda estrategia (ELISA SAPA/TS) consistió en determinar en cada binomio la relación entre las IgG anti-SAPA y las dirigidas contra la región N terminal de la Transialidasas (TS) del parásito que únicamente son sintetizados por la madre. Las técnicas se evaluaron y se compararon con el ELISA SAPA frente a un panel de sueros de binomios Bb-MM, incluyendo niños de hasta 12 meses de edad (n= 16). El ELISA av. SAPA y ELISA SAPA/TS mostraron una especificidad (Es) del 100% y una sensibilidad (Se) del 60%, resultando con un mejor desempeño diagnóstico que el ELISA SAPA (Es= 100%, Se= 20%). Si bien debe aumentarse el tamaño muestral para corroborar los resultados, cabe destacar que algunos niños no presentaron niveles detectables de Acs anti-SAPA, lo que explica la baja sensibilidad de las técnicas basadas en detectar anti-SAPA y sugiere que la utilidad de este Ag para el diagnóstico de la ECc es limitada.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**DT032****Evaluación de nuevos antígenos recombinantes para el diagnóstico de *Trypanosoma vivax* en bovinos.****Castro GV<sup>1</sup>, Allasia M<sup>2</sup>, Gonzalez LN<sup>3</sup>, Greif G<sup>4</sup>, Arias D<sup>3</sup>, Bontempi I<sup>1,5</sup>**<sup>1</sup>LTI-FBCB-UNL, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>FCV-UNL, Esperanza, Argentina. <sup>3</sup>LEM-IAL-CONICET-UNL, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>Unidad de Biología Molecular, Institut Pasteur Montevideo, Montevideo, Uruguay. <sup>5</sup>FCM-UNL, Santa Fe, Argentina**Resumen**

La Tripanosomiasis Bovina (TB) es una enfermedad que produce anemia, aborto, pérdida de peso y ocasionalmente la muerte de los bovinos afectados, siendo el protozoo *Trypanosoma vivax* el principal agente causal en Sudamérica. Actualmente en nuestro país, el diagnóstico de rutina de la TB se realiza mediante la detección de los tripanosomas en sangre por microscopia directa, siendo una técnica muy poco sensible durante el estadio de baja parasitemia. Es por esto que el desarrollo de técnicas serológicas, como el ensayo de ELISA, es una de las herramientas de elección para la detección de la TB. En este trabajo, presentamos el desarrollo de un ELISA indirecto para la detección de *T. vivax* y analizamos la prevalencia en establecimientos lecheros provenientes de la cuenca lechera de Argentina. Para esto, se utilizó una mezcla de antígenos recombinantes de superficie y se evaluó su capacidad diagnóstica frente a un panel de 80 sueros de vacas lecheras Holstein positivos para *T. vivax* mediante la técnica de Woo y PCR y 16 sueros de bovinos no infectados. Para la evaluación de la prevalencia, se utilizaron 360 muestras de suero de bovinos provenientes de 13 establecimientos lecheros, de las provincias de Córdoba y Santa Fe, entre los años 2019 y 2021. Los resultados del ensayo de ELISA mostraron una sensibilidad y especificidad notablemente alta (93,81% y 95,83%, respectivamente) y un área bajo la curva ROC de 0.98. La prevalencia promedio de dicha enfermedad en los establecimientos evaluados alcanzo el 76.6 %. En este trabajo presentamos el desarrollo de un diagnóstico serológico con muy buena discriminación entre sueros positivos y negativos. Además, informamos resultados sobre una alta prevalencia de *T. vivax* en bovinos provenientes de la cuenca lechera de nuestro país.

**Tipo de Presentación**

Póster.



**DT040****The effect of benznidazole-loaded nanostructured lipid carriers on *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes and amastigotes.****Muraca G<sup>1</sup>, Alba Soto C<sup>2</sup>, Sbaraglini ML<sup>1</sup>, Chain CY<sup>3</sup>, Alvarez VA<sup>4</sup>, Castro G<sup>5,6</sup>, Islan G<sup>6</sup>, Talevi A<sup>1</sup>**<sup>1</sup>LIDeB, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>IMPAM, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>INIFTA, La Plata, Argentina. <sup>4</sup>INTEMA, Mar del Plata, Argentina. <sup>5</sup>Max Planck, Rosario, Argentina. <sup>6</sup>CINDEFI, La Plata, Argentina**Resumen**

Chagas disease is an infection caused by *Trypanosoma cruzi* that affects approximately 8 million people. Possibly due to the cellular internalization of the parasite after evasion of the host immune response, pharmacotherapy fails to eradicate the parasites in tissue reservoirs and causes a low cure rate in chronic patients. Drug delivery in nanotechnological vehicles is a novel strategy that aims to modify the pharmacokinetics parameters such as bioavailability and targeted biodistribution to specific cell types and tissues. Our goal was to develop a nanostructured lipid carrier (NLC) loaded with benznidazole (BNZ) to evaluate its effect on the circulating and intracellular forms of the parasite. NLC were prepared by the hot-emulsification and ultrasonication technique. Formulations were characterized in terms of entrapment efficiency (%EE), particle size, polydispersity index, Z-potential, thermal and structural properties, and antitrypanosomal activity. Formulations showed high %EE (80%), spherical shape, an average size of 165 nm, low polydispersity (PDI 0.3) and Z-pot around -5 mV. Antitrypanosomal assays were performed against the K98 T. cruzi clone. Trypomastigotes (7x10<sup>4</sup> per well) were cocultured with different dilutions of BNZ and NLC-BNZ in RPMI 1640 medium in a 96 well-plate at 37 °C for 24 h. The number of parasites alive after the incubation was counted using an optical microscope. For the evaluation against amastigotes, Vero cells previously infected with trypomastigotes at MOI 1:2 were seeded in RPMI at 2x10<sup>4</sup> cells per well. Freshly dilutions of BNZ and NLC-BNZ were added. After 72 h, the cells were harvested and processed for flow cytometry analysis. Evaluation of the NLC-BNZ against trypomastigotes and amastigotes showed a similar effect as using BNZ. In conclusion, NLC-BNZ with suitable size and shape were developed, and antitrypanosomal activity resulted in a similar effect of the free drug and NLC-BNZ on trypomastigotes and amastigotes.

**Tipo de Presentación**

Póster.

## DT041

### Identificación de Inhibidores de la *trans*-Sialidasa de *Trypanosoma cruzi* por *Screening* Virtual basado en Similitud del Sustrato.

**Ferreyra J<sup>1</sup>, Gallo F<sup>2</sup>, Campetella O<sup>1</sup>, Bollini M<sup>2</sup>, Mucci J<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, UNSAM-CONICET, San Martín, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Química Medicinal, CIBION-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

#### Resumen

El parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, enfermedad endémica en más de 21 países del mundo. Se estima que entre 8 y 10 millones de personas se encuentran infectadas y alrededor de 100 millones corren riesgo de contraer la enfermedad. Hasta el momento sólo existen dos drogas aceptadas para el tratamiento de la enfermedad, el nifurtinóx y Beznidazol, las cuales son poco efectivas en la etapa crónica de la infección.

La *trans*-sialidasa (TS) de *T. cruzi* es una enzima capaz de transferir ácido siálico desde los glicoconjugados del hospedador hacia moléculas tipo mucinas en la superficie del parásito siendo crítica para evadir el sistema inmune, la infección celular y está ausente en mamíferos. Por ende, la TS resulta ser un blanco atractivo para el desarrollo de nuevos fármacos. Cabe destacar que no existen buenos inhibidores contra la TS y sólo unos pocos se encuentran en el rango de IC<sub>50</sub> ≈ 1-10 µM. Partimos de una base de 3000 compuestos con similitud fisicoquímica con la sialil-lactosa, sustrato de la TS, obtenidos utilizando el software PharmaScreem de la compañía PharmaCelera. Luego para refinar la búsqueda, se llevó a cabo un *screening* virtual de 3000 compuestos en el sitio activo de la enzima TS (PDB: 1s0i), usando 4 programas de docking: AutoDock vina, AutoDock 4, Smina y LeDock. Las moléculas mejor posicionadas fueron agrupadas según similitud estructural, y de cada grupo se seleccionó una molécula ponderando aquellas que presentan interacciones claves en el sitio activo según los resultados de docking, y aquellas con adecuados perfiles farmacológicos. Se estudió el comportamiento de cada una de estas moléculas en el sitio activo en dinámicas moleculares de 500 ns de duración y con toda esta información se seleccionaron y adquirieron 24 compuestos. Estos fueron evaluados enzimáticamente a 3 concentraciones fijas 1 mM, 0,1 mM y 0,01 mM y tres compuestos resultaron ser activos a 10 µM mostrando IC<sub>50</sub> entre 3-9 µM.

#### Tipo de Presentación

Póster.

**DT045****Efecto fotodinámico de Soranjidiol sobre amastigotes intracelulares de Leishmania braziliensis.****Dimmer JA<sup>1,2</sup>, Barrionuevo CN<sup>1,3</sup>, Rivarola HW<sup>1,4</sup>, Núñez Montoya SC<sup>2,5</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Estudios e Investigación de la Enfermedad de Chagas y Leishmaniasis, Fac. Cs. Médicas, UNC, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV), CONICET., Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), CONICET, Córdoba, Argentina. <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), CONICET, Córdoba, Argentina. <sup>5</sup>Dpto. Ciencias Farmacéuticas, Fac. Cs. Qcas. UNC, Córdoba, Argentina

**Resumen**

El estudio de nuevos tratamientos sobre la forma amastigote (A) de Leishmania es de suma importancia, ya que estas se multiplican dentro de los macrófagos (M) infectando diferentes tejidos del ser humano. Soranjidiol (Sor), es un compuesto natural obtenido del género Heterophyllaea que posee propiedades fotosensibilizadoras. Se estudió el efecto de Sor sobre M de la línea celular J774.A1, realizados con A de Leishmania braziliensis y usando LED blanco. Se coinfectaron  $2 \times 10^5$  M/pocillo con un MOI 1:10 de promastigotes. Luego de 24 h, se agregó a la microplaca los siguientes ensayos, resguardados de la luz: control negativo (CN, sólo con PBS), Anfotericina B  $0,5 \mu\text{M}$  (Anf), y Sor a 5 y  $10 \mu\text{M}$ . Previamente, se probaron que las concentraciones de Sor no son citotóxicas para M. Para las condiciones de irradiación, se incluyeron: CN (CN-L) y Sor a 5 y  $10 \mu\text{M}$  (Sor-5L y Sor-10L). Luego de 10 min (tiempo de pre-irradiación), fueron irradiadas con LED (dosis:  $11 \text{ J/cm}^2$ ) durante 15 min. Al finalizar, las soluciones fueron reemplazadas por medio RPMI para su incubación durante 72 h. Se realizó la tinción con Giemsa para determinar la tasa de infección (TI): n° de A intracelulares/M establecidos por el porcentaje de infección.

Las TI luego del tratamiento con Sor en oscuridad y con ambas concentraciones, no aparecieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al CN ( $509,1 \pm 33,5$ ). La fotoactivación de Sor-5L redujo la TI ( $354,6 \pm 47,6$ ) en un 27 % respecto al CN-L ( $486,3 \pm 8,8$ ,  $p < 0,05$ ) y fue similar a la que se obtiene con Anf ( $347,5 \pm 38,6$ ), la cual se emplea en el tratamiento de Leishmaniasis cutánea (LC). Mientras que para Sor-10L se obtuvo una mayor reducción de la TI ( $184,9 \pm 67,0$ ,  $p < 0,0001$ ), que representa un 62 % menos respecto a CN-L. Este resultado en concordancia con los obtenidos para L. amazonensis, motiva a continuar con el estudio de Sor a fin de lograr una terapia efectiva para el tratamiento de LC.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**DT048**

## **Diseño y caracterización fisicoquímica de complejos Nifurtimox-Ciclodextrina y su efecto contra Trypanosoma cruzi in-vitro.**

**Bedogni G<sup>1</sup>, Rial M<sup>2</sup>, Fichera L<sup>2,3</sup>, Salomon C<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Química Rosario (IQUIR-CONICET), Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chabén", ANLIS-C.G. Malbrán, Bs. As., Argentina. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Bs. As., Argentina. <sup>4</sup>Área Técnica Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina

### **Resumen**

Las ciclodextrinas (CD) son una familia de moléculas cíclicas naturales o modificadas sintéticamente. Tienen una forma toroidal, donde la disposición de los hidroxilos primarios y secundarios generan que la cavidad interna sea relativamente hidrofóbica, mientras la superficie exterior presenta características hidrofílicas. Esto permite que moléculas hidrofóbicas interactúen con el interior, formando complejos que ayudan a superar inconvenientes asociados con la baja solubilidad acuosa de los fármacos.

Los complejos de nifurtimox/ciclodextrinas (NFX/CD) fueron preparados con una relación molar 1:1 mediante co-evaporación, con las correspondientes mezclas físicas como control. Los polvos recuperados fueron posteriormente pulverizados y tamizados con el fin de obtener partículas con un tamaño comprendido entre 150 y 250  $\mu\text{m}$ . Los complejos obtenidos presentaron una mayor velocidad de disolución al comparar con el activo puro ( $p < 0.01$ ), alcanzando a disolver hasta el 80% de NFX desde los complejos luego de 30 minutos, mientras que entre un 50-60% desde las mezclas físicas y menos del 40% para NFX durante el mismo periodo de tiempo. Mediante calorimetría diferencial de barrido se pudo observar un corrimiento del evento endotérmico correspondiente a NFX a temperaturas menores, junto con una reducción en la variación de entalpía. En los espectros infrarrojo se observaron bandas características de NFX tanto en complejos como en las mezclas físicas ( $\delta\text{C-H}$  del metil y del 1,4-tiazinan a 1468.97 y 807.746  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, como así también la vibración angular del  $\text{NO}_2$  a 1397  $\text{cm}^{-1}$ ).

En este trabajo, evaluamos la toxicidad de los NFX/CD en células Vero, los efectos hemolíticos en sangre y la actividad tripanocida en tripomastigotes de *T. cruzi* Nicaragua (TcN).

Los complejos NFX/CD fueron viables en células de mamíferos in-vitro, no produjeron hemólisis en la sangre humana y lograron lisar tripomastigotes de TcN.

### **Tipo de Presentación**

Póster.

DT053

**Cryptosporidiosis persistente en una paciente inmunocomprometida con VIH-SIDA.****Indelman P<sup>1</sup>, Cámpora T<sup>2</sup>, Fiordani C<sup>2</sup>, Gauto V<sup>2</sup>, Semenza S<sup>2</sup>, Corbella J<sup>1</sup>, Cerdán MC<sup>1</sup>, Nocito I<sup>1</sup>, Oprini Y<sup>1</sup>, Bergia P<sup>1</sup>, Serra E<sup>1,3</sup>, Bassi G<sup>4</sup>, Cribb P<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Area Parasitología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Biología Molecular y celular de Rosario (IBR-CONICET-UNR), Rosario, Argentina. <sup>4</sup>Hospital Provincial del Centenario, Rosario, Argentina

**Resumen**

La cryptosporidiosis es una enfermedad emergente causada por parásitos protozoos del género *Cryptosporidium*. Existen unas 20 especies con relativa especificidad de hospedador, siendo las más frecuentes en el hombre *C. hominis* y *C. parvum*. *Cryptosporidium* se caracteriza por la gran resistencia de sus ooquistes, su capacidad de autoinfección endógena y la resistencia a la terapéutica antiparasitaria. En pacientes con SIDA, ocasiona cuadros clínicos graves y potencialmente fatales. Las manifestaciones clínicas dependen básicamente del recuento de linfocitos T CD4+.

Se presenta el caso clínico de una paciente de 26 años con VIH-SIDA de la ciudad de Rosario, Santa Fe, Argentina. La paciente vive en condiciones precarias, con abandonos reiterados del tratamiento antirretroviral. En internaciones previas se le diagnosticó *Cryptosporidium* spp. En su última internación la paciente ingresó por tetania secundaria a hipocalcemia severa, hipopotasemia severa, falla renal y desnutrición. No autolimitaba la diarrea por lo que se sospechó que continuaba con cryptosporidiosis.

El objetivo de este trabajo fue confirmar la persistencia de *Cryptosporidium* spp. y determinar la especie del parásito utilizando métodos moleculares. Se procesaron muestras de materia fecal fresca y seriada aplicando métodos de concentración y coloración de Safranina, donde se confirmó por microscopía óptica la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Mediante qPCR utilizando sondas de hidrólisis se determinó que se trataba de *C. hominis*.

Es de suponer que los múltiples abandonos del tratamiento antirretroviral por la paciente, llevaron a la persistencia del parásito. La importancia de la determinación molecular de la especie de *Cryptosporidium*, radicaría en evaluar fuentes de infección con fines epidemiológicos. En casos de inmunosupresión sería relevante la determinación de la especie, ya que *C. hominis* ha demostrado diseminación extraintestinal asociado a otras afecciones.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**DT055****Improved serological detection of Chagas Disease cases in Mexico using a novel independent set of antigens.****Salas-Sarduy E<sup>1</sup>, Bracco L<sup>1</sup>, Ricci A<sup>1</sup>, Pech-May A<sup>2,3</sup>, Lynn MK<sup>4</sup>, Nolan MD<sup>4</sup>, Ramsey JM<sup>2</sup>, Agüero F<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO), UNSAM - CONICET., San Martín, Buenos Aires., Argentina. <sup>2</sup>Centro Regional de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud Pública., Tapachula, Chiapas., Mexico. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMET), ANLIS-Malbrán., Iguazú, Misiones., Argentina. <sup>4</sup>University of South Carolina., South Carolina., USA

**Resumen**

Detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* is the method of choice for the diagnosis of chronic Chagas Disease. However current serological tests have a number of limitations, hence current recommendations by the World Health Organization require two positive serological results from independent tests. However, existing tests display low reactivity or fail to detect samples from North America, particularly Mexico and the US. Recently, we have obtained detailed genome-wide information on seroreactivity of short *T. cruzi*-encoded peptides against a diverse selection of Chagas positive samples across the Americas (communication by Ricci A *et al*). Using data from this project, we prioritised new antigens and epitopes with high reactivity and/or seroprevalence in North America. Thirty four short epitopes were produced as synthetic peptides, and one novel antigen containing a longer antigenic region was produced as a recombinant protein. Individual seroreactivity of these 35 novel antigens against two cohorts from Mexico (180 serum samples; 90 from Oaxaca and 90 from Yucatan) with evidence of null to moderate seroreactivity with existing commercial tests, led to the selection of 11 antigens, based on their seroreactivity, seroprevalence and complementarity. This orthogonal antigen set showed better performance than the last-generation Wiener v4.0 test (sensitivity 60/111, 54% vs 50/111, 45%), under non-optimized screening conditions, hence showing promise for further improvement. Future work will focus on assembling a proof-of-principle diagnostic reagent and evaluate its performance on a cohort of serum samples from the US.

**Tipo de Presentación**

Póster.

DT059

**Búsqueda de nuevos blancos terapéuticos en la Enfermedad de Chagas:  
Caracterización de la proteína TcSR62 de *Trypanosoma cruzi*.****Níttolo AG<sup>1,2</sup>, Couce MD<sup>1</sup>, Chidichimo A<sup>1</sup>, González FE<sup>2</sup>, Benacerraf AL<sup>3</sup>, Cardozo T<sup>3</sup>,  
Levy G<sup>1,2</sup>**

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

**Resumen**

Previamente, demostramos que la proteína TbRRM1 de *T. brucei* es esencial en la sobrevivencia de los parásitos ya que su depleción, tanto en parásitos procíclicos como en sanguíneos, lleva a la muerte de los mismos por un proceso del tipo apoptótico. Además, sugerimos que tendría un rol transcripcional, dado que su depleción contribuye al aumento en el contenido de heterocromatina con una concomitante reducción de la transcripción de genes dependientes de la Polimerasa II.

La proteína ortóloga de TbRRM1 en *T. cruzi* se denomina TcSR62 y poco es lo que se sabe acerca de su función. Estudios previos indicaron que tendría, al igual que TbRRM1, una localización nuclear, pero posteriormente se sugirió que además se localizaría en reservosomas y en la superficie celular, indicando que cumpliría roles adicionales a los descriptos para TbRRM1. Para este trabajo propusimos la caracterización del perfil de expresión y localización de TcSR62 en diferentes cepas de *T. cruzi* y el modelado seguido de docking molecular para la identificación de drogas que permitan inhibir la función de sus dominios de unión a ARN. Se obtuvieron así 13 drogas candidatas que fueron ensayadas in vitro en diferentes estadios y se evaluó la sobrevivencia de los parásitos por medio del ensayo de resazurina. Para las drogas que mostraron una caída significativa del número de parásitos, se evaluó el perfil farmacológico y la toxicidad de las mismas en células Vero. Dado que no existen ortólogos en humanos, la inhibición farmacológica de la proteína TcSR62 puede ser un abordaje terapéutico menos tóxico que el que hoy se utiliza. Por lo tanto, esta nueva estrategia podría mejorar la calidad de vida de los pacientes que sufren enfermedades causadas por Trypanosomas.

Este proyecto fue parcialmente financiado por la Universidad Nacional de La Matanza a través de Proince E18 20-21; Proince E19 21-22, Vincular 2020 y por el CONICET a través del PIP 1859.

**Tipo de Presentación**

Póster.

DT069

**Tratamiento con isotretinoína en ratones C57BJ/6 crónicos infectados con *T. cruzi* Nicaragua.****Rial M<sup>1</sup>, Reigada C<sup>2,3</sup>, Prado N<sup>1</sup>, Bua J<sup>1,3</sup>, Esteva M<sup>1</sup>, Pereira C<sup>2,3</sup>, Fichera L<sup>1,3</sup>**<sup>1</sup>Instituto Nacional de Parasitología Dr. M Fatala Chaben/ANLIS-Dr. Carlos G Malbrá., CABA, Argentina.<sup>2</sup>Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, IDIM-CONICET, Bs. As., Argentina. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET, Bs. As., Argentina**Resumen**

Los medicamentos utilizados para el tratamiento de la enfermedad de Chagas son: el benznidazol y el nifurtimox, cuyos efectos secundarios pueden afectar la adherencia de los pacientes. En la búsqueda de nuevas opciones de tratamiento, como el reposicionamiento de fármacos, identificamos la isotretinoína (ISO), utilizada para el tratamiento del acné, con un alto efecto tripanocida en rango nanomolar y un inhibidor del transporte de poliamias de *T. cruzi* (Reigada et al., 2017). En este trabajo, ratones C57BJ/6 crónicos infectados con 3000 tripomastigotes de *T. cruzi* Nicaragua por vía intraperitoneal, fueron tratados con diferentes administraciones orales de ISO: 5 mg/kg/día por 30 dosis diarias (150 mg totales), 10 y 50 mg/kg por 13 dosis [1 dosis cada 7 días (130 y 650 mg totales, respectivamente)]. La eficacia de los tratamientos fue evaluada mediante la parasitemia en sangre por qPCR, la serología en suero por ELISA (antígeno lisado de la cepa *Tc. Tulahuen*) y las alteraciones cardíacas mediante electrocardiografía.

No se detectó carga parasitaria en la sangre en los ratones tratados con las distintas dosis por qPCR. El estudio electrocardiográfico de los ratones crónicos no tratados mostró una significativa disminución de la frecuencia cardíaca, mientras que en los tratados este efecto cronotrópico negativo no se observó. El tiempo de conducción del nódulo aurículo-ventricular en los ratones no tratados fue significativamente mayor que en los animales tratados. Con la dosis de 10 mg/kg los ratones mostraron, además, una reducción significativa en los niveles de IgG en los sueros.

Conclusión: La administración intermitente de la ISO 10 mg/kg con una dosis total de 130 mg, mejoraría el compromiso miocárdico durante la etapa crónica, evidenciado por la disminución de los niveles de anticuerpos y de la parasitemia.

**Tipo de Presentación**

Póster.



**DT088****Impacto de la pandemia por COVID 19 en adultos con Enfermedad de Chagas crónica atendidos en el Instituto Nacional de Parasitología “Dr. M Fatała Chabén” INP-ANLIS.****Lopez SM, Hernández Vásquez Y, Fernández M, Prado N**

INP-ANLIS, CABA, Argentina

**Resumen**

La pandemia por COVID-19 obligó a los países a tomar medidas fundamentales, concentrando los recursos de salud en medidas de prevención. El objetivo de este estudio fue conocer el impacto de la pandemia y el aislamiento en personas con Enfermedad de Chagas que asistieron personalmente al control médico al INP. Se diseñó un cuestionario abordando diferentes aspectos: socios demográficos, laborales, emocionales y otros. Se aplicó de julio a octubre 2021, previo consentimiento (CI). De un total de 40 cuestionarios, 57% fueron femeninos, 63% tenía entre 44 a 63 años. El 37% nació en NOA, 20 % en Bolivia, 20 % en GBA y 23% otros. Se auto identificaron como pertenecientes a pueblos originarios 17/40 (42%). Antes de la pandemia trabajaba el 65%. Durante la pandemia 30% tuvieron que abandonar su trabajo, 38% tuvo reducción de sueldo y horas, para un 23% aumentó la carga laboral. 77% afirmó tener dificultad para llegar a fin de mes. El 55% pertenecía a grupos de riesgo. El 70 % refirió haberse infectado con COVID 19; asimismo 77% afirma haber respetado las medidas de protección: barbijo, lavado de manos, alcohol, lavandina, distancia social y aislamiento obligatorio. Para un 50% la convivencia fue buena, con momentos difíciles (40%) y para un 10% mala. La mayoría contaban con alguien que lo asistiera y se comunicaban por WhatsApp y llamadas telefónicas, siendo la principal fuente de información la televisión (85%). Aumentaron significativamente los estados de angustia un 30% e insomnio un 22% ( $P < 0.005$ ) Bajo preguntas estandarizadas, 16/40 presentaron angustia psicológica (11 leve, 3 moderada y 2 grave) con mayor ansiedad que depresión. Sólo 7 se encontraban en tratamiento Psicológico o psiquiátrico. Otros atravesando duelo por COVID y Cáncer (6). Se concluye del estudio que el impacto más negativo ha sido laboral y emocional. Se evidenció la importancia de continuar realizando la atención médica y adecuar protocolos de atención para períodos de pandemia.

161

**Tipo de Presentación**

Póster.

DT095

**Estudio funcional de microRNAs en parásitos cestodos.****Grecco A<sup>1</sup>, Macchiaroli N<sup>2</sup>, Cucher M<sup>1</sup>, Rosenzvit M<sup>1</sup>**<sup>1</sup>IMPAM-UBA-CONICET, CABA, Argentina. <sup>2</sup>iB3-FCEN-UBA, CABA, Argentina**Resumen**

*Mesocestoides vogae* es un parásito platelminto validado como modelo de laboratorio de la clase Cestoda. Esta clase incluye especies como *Echinococcus granulosus* y *E. multilocularis* que causan enfermedades desatendidas como equinococosis. Los microRNAs (miRNAs) son pequeños ARNs no codificantes que regulan la expresión génica a nivel post-transcripcional reconociendo sitios en el 3'UTR de sus ARNm blanco e inhibiendo su expresión. miR-71 es un miRNA altamente expresado en parásitos cestodos, ausente en vertebrados y con genes blanco esenciales para la biología parasitaria, por lo que representa un potencial blanco terapéutico selectivo. Previamente se silenció miR-71 en cultivos celulares primarios de *E. multilocularis*. El objetivo de este trabajo es silenciar miR-71 en parásitos completos, en particular en tetratiridios (estadio larvario de *M. vogae*) e identificar sus genes blanco. Para llevar a cabo el silenciamiento de miR-71, se utilizaron antimirs, oligonucleótidos complementarios al miRNA que al unirse al mismo bloquean su función. Previamente, se transfectaron tetratiridios con concentraciones crecientes de un oligonucleótido fluorescente y se observaron al microscopio confocal, para determinar las mejores condiciones. Luego se realizaron las transfecciones en 3 réplicas biológicas, lográndose un 65% de silenciamiento determinado mediante RT-qPCR. Se indujo la estrobilización de parásitos silenciados y control, y se observó mayor capacidad de estrobilización en los primeros. Estos resultados sugieren que miR-71 estaría involucrado en el mantenimiento del estadio larval, regulando negativamente la expresión de genes necesarios para la estrobilización. La verificación experimental de genes blanco de miR-71, ya predichos mediante herramientas bioinformáticas, está en curso. Estos resultados proveen una estrategia para estudiar la función de los miRNAs en parásitos cestodos y analizar su potencial como blancos de drogas de enfermedades parasitarias desatendidas.

162

**Tipo de Presentación**

Póster.

## DT102

### **Evaluación de muestras de sangre en papel de filtro Whatman 903 para el diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas congénita.**

**Jurado Medina L<sup>1</sup>, Ballering G<sup>2</sup>, Moroni S<sup>2</sup>, Gonzalez N<sup>2</sup>, Lascano F<sup>1</sup>, Moscatelli G<sup>1,2</sup>, Ramirez JC<sup>1</sup>, Altcheh JM<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>IMIPP-CONICET-GCBA, CABA, Argentina. <sup>2</sup>Hospital de Niños Ricardo Gutierrez, CABA, Argentina

#### **Resumen**

El programa nacional de pesquisa neonatal utiliza muestras de sangre en papel de filtro Whatman™ 903 por las múltiples ventajas que ofrece este soporte para la conservación y el traslado de las muestras. La inclusión del diagnóstico de la enfermedad de Chagas congénita en el programa de pesquisa neonatal permitiría disminuir el número de bebés infectados que no llegan a ser diagnosticados durante sus primeros meses de vida. Con el objetivo de evaluar la sensibilidad de la qPCR para detectar ADN parasitario en muestras de sangre conservadas en papel de filtro Whatman™ 903, se prepararon muestras artificiales contaminadas con concentraciones seriadas de ADN de *Trypanosoma cruzi*, de 0,78 a 50 fg/uL. Se analizaron 10 réplicas de cada concentración y se compararon los ensayos comerciales de extracción de ADN de Roche y Qiagen, obteniéndose límites de detección de 31,36 y 13,11 fg/uL, respectivamente. Teniendo en cuenta este resultado se seleccionó el ensayo de Qiagen para procesar 21 muestras de sangre de neonatos, hijos de madres con la enfermedad de Chagas, conservadas en papel de filtro Whatman™ 903 y solución de guanidina-EDTA, para verificar la concordancia entre los resultados de ambos métodos de conservación de las muestras. Los resultados de qPCR para ambos tipos de muestras tuvieron un 100% de concordancia, con una sensibilidad y especificidad del 100%. De los neonatos estudiados, 3 fueron diagnosticados como infectados y 18 como no infectados, mediante los ensayos de referencia (micro hematocrito antes de los 8 meses de edad y serológicos a partir de los 8 meses de edad). Los resultados de este estudio respaldan la implementación del uso de las muestras de sangre en papel de filtro Whatman™ 903, colectadas dentro del programa de pesquisa neonatal, para el diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas congénita a nivel nacional.

163

#### **Tipo de Presentación**

Póster.

**DT104****Investigación y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas contra la leishmaniosis cutánea basada en agonistas de receptores tipo Toll.****Arrieta VJ<sup>1</sup>, Germanó MJ<sup>1</sup>, Bruna FA<sup>1</sup>, Sanchez MV<sup>1</sup>, Lozano EJ<sup>1</sup>, Cargenlutti DE<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU) CCT-Mendoza, CONICET, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Área de Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina**Resumen**

La leishmaniosis es una zoonosis parasitaria en expansión en América del Sur y es considerada una enfermedad desatendida por la Organización Mundial de la Salud, debido a que afecta principalmente a poblaciones de bajos recursos y con acceso limitado a servicios de salud. Actualmente, no existe una vacuna para la prevención de la leishmaniosis en humanos y los tratamientos actuales, no producidos en nuestro país, generan una elevada toxicidad. Por lo tanto, consideramos necesario desarrollar alternativas inmunoterapéuticas basadas en vacunas de primera generación. En este trabajo evaluamos el efecto de una vacuna terapéutica formulada con antígenos totales de *L. amazonensis* (ATL) y un agonista de TLR-3 [Poly (I:C)] como adyuvante. Nuestro equipo de trabajo ha informado que dicha formulación vacunal genera una respuesta inmune protectora de tipo Th1, caracterizada por una alta producción de IgG2a e IFN- $\gamma$  y con bajos niveles de IL-4 e IL-10. En el presente trabajo, se infectaron ratones BALB/c en la almohadilla plantar con  $1 \times 10^4$  promastigotes de *L. amazonensis* y se trataron con la formulación ATL+Poly (I:C), con un esquema de 5 dosis subcutáneas con un intervalo de 7 días. PBS, Glucantime, ATL y Poly (I:C) se utilizaron como grupos de control. Se analizaron parámetros como la tumefacción del sitio de infección, carga parasitaria, histopatología, índice esplénico y respuesta inmune humoral. Observamos que Poly (I:C) logró controlar la infección, generando una menor tumefacción con una histoarquitectura más conservada en el sitio de infección. Además, los animales tratados con Poly (I:C), presentaron una menor carga parasitaria y una disminución en los niveles de IgG en comparación con ATL+Poly (I:C). Estos resultados demuestran un posible efecto terapéutico de Poly (I:C) contra la leishmaniosis cutánea. En base a estos resultados, se plantea como perspectiva, la evaluación de distintas dosis y esquemas terapéuticos de Poly (I:C) para el tratamiento de la leishmaniosis.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**DT113****Acrilonitrilos: compuestos altamente activos contra *Trypanosoma cruzi*.****Castillo-González W<sup>1</sup>, Keeyna U<sup>1</sup>, Bethencourt-Estrella CJ<sup>2</sup>, López-Arencibia A<sup>2</sup>, Delgado-Hernández S<sup>3</sup>, Lorenzo-Morales J<sup>2</sup>, Piñero JE<sup>2</sup>, Petray P<sup>1</sup>, Frank FM<sup>1</sup>**<sup>1</sup>IMPAM (UBA-CONICET), CABA, Argentina. <sup>2</sup>IUETySPC, Universidad de La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, Spain. <sup>3</sup>IPNA, Universidad de La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, Spain**Resumen**

La Enfermedad de Chagas afecta a millones de personas en el mundo y es considerada un problema de salud en Argentina. Recientemente estudiamos una serie de 32 acrilonitrilos sintéticos con potencial actividad tripanocida, de los cuales se seleccionaron los 6 que mejor se comportaron frente a epimastigotes de la cepa Y. En el presente trabajo nos propusimos estudiar la actividad biológica de estos acrilonitrilos sobre distintos estadios de *Trypanosoma cruzi*, cepa RA. Para ello, se incubaron epimastigotes o tripomastigotes de *T. cruzi* en presencia de los compuestos 25, 29, 7, 19, 1 y 2 (0-100 µg/ml). Se calculó la Concentración Inhibitoria 50 y 90 (CI<sub>50</sub>, CI<sub>90</sub>) e Índice de selectividad (SI) considerando el CC<sub>50</sub> obtenido en macrófagos murinos.

Los compuestos 25, 29 y 2 mostraron valores de CI<sub>50</sub> sobre epimastigotes entre 5.45 µg/ml y 6.79 µg/ml. Si bien sus valores de IC<sub>50</sub> no fueron los más bajos, observamos buenos índices de selectividad (57.2; 48.3 y 20.6 respectivamente). Las drogas 7, 19 y 1 presentaron los menores CI<sub>50</sub> frente a epimastigotes con valores de 0.80 µg/ml, 1.59 µg/ml y 3.20 µg/ml respectivamente, con SI de 58.0; 13.9 y 27.3. Reportamos CI<sub>90</sub> en epimastigotes con valores de 16.44 µg/ml, 24.83 µg/ml y 32.28 µg/ml respectivamente.

Se realizó el ensayo sobre tripomastigotes sanguíneos de estos 3 acrilonitrilos, mostrando valores de CI<sub>50</sub> de 0.6 µg/ml, 8.9 µg/ml y 20.01 µg/ml respectivamente. Destacándose el compuesto 7, (*E*)-phenyl 3-cyanoacrylate, con una selectividad de 77.4.

Con tinción de naranja de acridina, se observó un patrón de fenotipo apoptótico caracterizado por la presencia de cuerpos ácidos y núcleos picnóticos. Esto sugiere que inducen muerte celular programada en los parásitos. Con los resultados obtenidos podemos concluir que estas drogas presentan un alto potencial como candidatos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Se impone el estudio de dichos compuestos sobre amastigotes y en el modelo *in vivo*.

**Tipo de Presentación**

Póster.

## 4 - Epidemiología y Vectores

### EV002

#### **Nuevas estrategias para la tipificación molecular de *Trypanosoma cruzi* empleando secuenciación profunda de las regiones hipervariables de los minicírculos.**

**Rusman F, Florida Yapur N, Díaz A, Tomasini N, Diosque P**

IPE-CONICET, Salta, Argentina

#### **Resumen**

*Trypanosoma cruzi* el agente causal de la enfermedad de Chagas, se clasifica en seis unidades principales de tipificación discreta o DTUs: TcI-TcVI. El ADN del kinetoplasto (ADNk) de este parásito se compone de dos tipos de moléculas: maxicírculos y minicírculos. Cada parásito tiene alrededor de  $10^5$  copias de la región hipervariable del minicírculo (mHVR) en su ADNk. Recientemente, hemos generado un esquema de secuenciación de nueva generación basado en la tecnología Illumina-MiSeq que nos permitió conocer en profundidad la diversidad genética de las mHVRs a nivel intra e inter-DTU. Debido a su elevado número de copias y a su gran diversidad, las mHVRs se convierten en marcadores promisorios para la tipificación. En el presente trabajo, optimizamos un esquema de tipificación basado en la secuenciación profunda de amplicones de mHVRs, para el que analizamos 64 cepas pertenecientes a los 6 DTUs. Aproximadamente 80 mil de secuencias fueron analizadas para cada una de las cepas. Las secuencias fueron agrupadas formando clústers a diferentes umbrales de similitud (85 % y 95%), de cada uno de los clústers se extrajo la una secuencia representativa para formar un set de secuencias útiles para la tipificación. Los resultados mostraron una gran diversidad de clústers de mHVRs, con numerosos clústers específicos de DTU. Asimismo, las cepas de un mismo DTU agrupan juntas de acuerdo con la composición y abundancia de los clústers de mHVRs. Además, observamos que los sets de secuencias representativas de cada clúster de mHVR se pueden emplear para la tipificación de cepas de las que se disponga de secuencias. Por último, proponemos que este enfoque de secuenciación profunda puede ser empleado para la tipificación de cepas de *Trypanosoma cruzi*, ya que más del 95% de las cepas evaluadas en este trabajo fueron tipificadas correctamente.

---

166

#### **Tipo de Presentación**

Póster.

**EV003****Patrones complejos de intercambio genético a nivel de genoma completo en aislados de *Trypanosoma cruzi* de América del Norte****Rusman E, Florida Yapur N, Díaz A, Diosque P, Tomasini N**

IPE-CONICET, Salta, Argentina

**Resumen**

Durante décadas se ha supuesto que *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas intercambia material genético en raras ocasiones. Sin embargo, estudios recientes en el área de la genómica de poblaciones sugieren que el intercambio genético es frecuente pero difícil de detectar. Hoy en día, gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación y a las herramientas bioinformáticas, podemos analizar y comparar genomas completos. En este trabajo, analizamos los genomas nucleares y mitocondriales de las cepas Corpus christi, TD23 y TD25, aisladas en América del Norte y caracterizadas como TcI. También incluimos en este estudio la cepa FloridaC1F8 tipificada como TcI nuclear y TcVIn por maxicírculos, para la que confirmamos por otros marcadores nucleares y mitocondriales lo anteriormente propuesto. Para las cuatro cepas analizamos las secuencias de las regiones hipervariables de los minicírculos (mHVRs). Las secuencias de las cepas fueron mapeadas contra el genoma nuclear y mitocondrial de la cepa de referencia Sylvio/X10 (TcI). El análisis de las variantes (SNPs) nucleares demostró que todas las cepas agrupaban con Sylvio/X10, mientras que el análisis de variantes mitocondriales (maxicírculos) demostró que las cepas Corpus christi y TD23 agrupan con la cepa CANIII (TcIV), mientras que la cepa TD25 agrupa con Sylvio/X10 (TcI). Los resultados del análisis de las mHVRs demuestran que estas cepas tienen en su composición minicírculos de los linajes TcI y TcIVn. Por último, proponemos que estos eventos de intercambio genético entre estos linajes distantes son lo suficientemente frecuentes como para eliminar evidencia de uno de los linajes (TcIV) a nivel nuclear, no así a nivel mitocondrial.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**EV017****Estudio del Gen NADPH Citocromo P450 Reductasa en *Triatoma infestans*: su relación con la resistencia a insecticidas.****Varela GM, Stroppa MM, García BA**

Cat. de Bioq. y Biol. Mol, FCM - INICSA (CONICET - UNC), Córdoba, Argentina

**Resumen**

Los programas de control de la enfermedad de Chagas promueven la eliminación de las poblaciones del vector *Triatoma infestans* mediante la fumigación con insecticidas piretroides. Sin embargo, se han observado fallas en el control debido a la existencia de resistencia a los insecticidas. Incrementos en la expresión de genes de citocromos P450 son considerados responsables de aumentar el metabolismo de insecticidas y parece ser un fenómeno común en el desarrollo de resistencia. Las reacciones de mono-oxigenación de citocromos P450 requieren de electrones provistos por la NADPH citocromo P450 reductasa (CPR). Análisis de la expresión de genes P450 y del gen CPR en poblaciones resistentes y susceptibles a deltametrina, revelaron que genes P450 estarían involucrados en el desarrollo de resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans*. Con el objetivo de inferir si los citocromos P450 están involucrados en la resistencia a insecticidas, se propuso investigar el efecto del silenciamiento del gen CPR, utilizando ARN de interferencia (ARN<sub>i</sub>) en una población resistente a insecticidas piretroides de *T. infestans*. Los resultados evidenciaron una disminución significativa en la expresión del gen CPR de aproximadamente diez veces en el grupo de insectos que fueron inyectados con el ARN<sub>i</sub> del gen CPR con respecto a los niveles de expresión hallados en los grupos control. El silenciamiento del gen CPR en la población resistente a insecticidas piretroides mostró un incremento significativo en la susceptibilidad a deltametrina. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que el proceso de desintoxicación metabólica mediado por citocromos P450 constituyen un factor fundamental en la resistencia a insecticidas piretroides observada en *T. infestans*.

168

**Tipo de Presentación**

Póster.



**EV018****Factores epidemiológicos asociados al desarrollo de patología cardíaca en la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*****Arias E, Olivera V, Bizai ML, Suasnabar S, Fabbro D**

CIEN - FBCB - UNL, Santa Fe, Argentina

**Resumen**

La evolución clínica de los infectados por *T. cruzi* es muy variable, desde ausencia de síntomas hasta manifestaciones cardiovasculares y/o digestivas severas. Los factores involucrados en su desarrollo son poco conocidos. Analizamos la asociación entre el tiempo de permanencia en área endémica y antecedentes familiares con el desarrollo de lesiones cardíacas.

Se estudiaron 375 infectados crónicos por *T. cruzi*, residentes en la ciudad de Santa Fe: 277 habían nacido y/o vivido en área endémica y 98 no. La edad promedio de diagnóstico fue  $32,1 \pm 10,9$  años. El 80% de los pacientes provenían del norte de Santa Fe, Chaco y Santiago del Estero. Presentaron alteraciones asociadas a cardiopatía chagásica crónica (CCC) 73/375 (19,5%), de ellos 22 (6 %) tenían comorbilidades (diabetes, hipertensión, obesidad, dislipemia, tabaquismo, alcoholismo) o edad >50 años. De los infectados con CCC, 11/98 (11,2%) no tenían antecedente migratorio mientras 62/277 (22,4%) habían vivido en área endémica ( $p=0,016$ ). Cuando se comparó el tiempo de permanencia en esas regiones entre quienes desarrollaron CCC y quienes permanecieron sin patología demostrable, se observaron diferencias significativas ( $15,3 \pm 9,4$  vs  $10,6 \pm 8,8$ ,  $p=0,0001$ ). La edad de detección de las lesiones fue:  $43,2 \pm 11,7$  y  $37,5 \pm 10,9$  según hubieran migrado o no, respectivamente.

Se analizó el desarrollo de CCC en 13 grupos familiares: 4 de ellos desarrollaron CCC severa todos sus miembros ( $n=8$ ), mientras en 9 familias (26 infectados) ninguno enfermó.

Además del riesgo de reinfecciones en quienes vivieron más tiempo en área endémica deben considerarse también las condiciones de vida, estado nutricional y la ausencia de controles clínicos adecuados. El lugar de procedencia de los infectados fue similar disminuyendo el riesgo de heterogeneidad regional del *T. cruzi*. Las características genéticas-inmunológicas del huésped y los factores ambientales jugarían un rol en la patogénesis de la enfermedad de Chagas.

**Tipo de Presentación**

Póster.

## EV038

### **Detección molecular y caracterización filogenética de Theileria equi en caballos (Equus caballus) de una zona periurbana de la provincia de Corrientes, Argentina**

**Stephan Sebastian P<sup>1</sup>, Benitez-Ibalo AP<sup>2</sup>, Flores FS<sup>3</sup>, Debárbora V<sup>2</sup>, Martinez EI<sup>4</sup>, Thompson C<sup>1</sup>, Mangold AJ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IdICaL) CONICET - INTA, Rafaela, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio Biología de los Parásitos, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Argentina. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina

#### **Resumen**

La piroplasmosis equina es una enfermedad endémica en la provincia de Corrientes cuyos agentes etiológicos reconocidos son Babesia caballi y Theileria equi. Se tomaron muestras de sangre de 42 caballos (Equus caballus) de la ciudad de Corrientes, Argentina a fin de determinar la presencia de T. equi. En el 81% de los caballos analizados se detectó la presencia de ADN del orden Piroplasmida. Las muestras de ADN obtenidas de sangre de equinos positivas por PCR para el orden Piroplasmida, fueron sometidas a amplificación del gen específico EMA-1 (antígeno 1 de merozoito) para T. equi. El análisis filogenético de una secuencia completa de ADNr 18S dio como resultado la identificación de T. equi sensu stricto (genotipo A). No se detectaron más genotipos en la población de caballos muestreada. Este estudio presenta la primera detección y caracterización molecular de T. equi mediante la secuenciación completa del ADNr 18S en Argentina. A partir de los resultados obtenidos, estudios Pósteriores que aborden la distribución y heterogeneidad de los genotipos de T. equi en Argentina, son necesarios. a fin de facilitar el diagnóstico, prevención y tratamiento de la piroplasmosis equina.

170

#### **Tipo de Presentación**

Póster.

**EV064****Análisis funcional de neuropéptidos en la regulación de la ecdisis y la reproducción en el insecto hemimetábolo *Rhodnius prolixus*****Volonté M<sup>1</sup>, Sterkel M<sup>1</sup>, Alborno M<sup>1</sup>, Ajmat MT<sup>2</sup>, Wulff JP<sup>3</sup>, Ons S<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Centro Regional de Estudios Genómicos - UNLP, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Biología - UNT, San Miguel de Tucumán, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular - INTA, Buenos Aires, Argentina**Resumen**

Los insectos son la forma predominante de vida animal debido en gran medida a sus estrategias particulares de desarrollo post-embrionario y reproducción que les han permitido colonizar todos los ambientes terrestres. Estos procesos son regulados por el sistema neuroendocrino, donde los neuropéptidos funcionan como moléculas de señalización intercelular.

Durante el desarrollo post-embrionario se suceden etapas de alimentación y muda; ésta última culmina con la ecdisis. Durante la ecdisis, los insectos se desprenden de la cutícula y emergen en el estadio siguiente del ciclo. Este proceso es inducido por un pulso de ecdisona que regula la expresión de diferentes neuropéptidos y sus receptores, activando una cascada de señalización mediada por péptidos. En insectos holometábolos, la cascada peptidérgica que regula la ecdisis ha sido bien descrita. Sin embargo, hay muy poca información funcional relacionada con la regulación neuroendocrina de la ecdisis en hemimetábolos, que muestran una metamorfosis incompleta.

Aquí estudiamos mediante RNA de interferencia la función de cinco genes que integran la red de señalización que regula la ecdisis en el insecto hemimetábolo *Rhodnius prolixus*. La reducción de la expresión de la hormona desencadenante de la ecdisis (ETH) resultó en letalidad en el momento esperado de la ecdisis. Además, evaluamos la participación de estos neuropéptidos en la regulación de la aptitud reproductiva en hembras adultas. A diferencia de los insectos holometábolos, el silenciamiento del gen *RhoprETH* redujo drásticamente la eclosión de los huevos, pero no afectó la oviposición. Se observaron resultados similares con el silenciamiento del precursor *RhoprOKA*. Se discute la conservación de la red neuropeptidérgica que regula la ecdisis y la reproducción en la clase Insecta.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**EV073****Caracterización funcional del ácido siálico presente en las glicoproteínas de superficie de *T. cruzi* en la infección del hospedador invertebrado****Camara MM, Prato CA, Parada-Puig R, Tribulatti V, Mucci JS**

IIBIO-UNSAM-CONICET, Buenos Aires, Argentina

**Resumen**

*Trypanosoma cruzi* presenta un ciclo de vida complejo alternando entre un hospedador invertebrado y un hospedador mamífero. La infección del hospedador invertebrado se encuentra aún poco caracterizada. Trabajos previos sugieren que las glicoproteínas de superficie jugarían un rol clave en la adhesión del epimastigote al epitelio del tracto digestivo del insecto, muchas de las cuales sonceptoras de ácido siálico. Por consiguiente, nos propusimos estudiar el efecto del siálico en la adhesión del parásito al epitelio del recto de *T. infestans*. Mediante ensayos de adhesión *in vitro* sobre ampollas rectales de ninfas de 4 estadio de *T. infestans* y epimastigotes de las cepas CL Brener y Dm28c sializados o no; pudimos determinar que la sialización de las moléculas de superficie disminuye la adhesión de los parásitos al recto del insecto. Este resultado indicaría que la adición de siálico es la responsable del despegado de los parásitos de la ampolla rectal, proceso clave para su diferenciación y posterior transmisión al hospedador mamífero. Luego nos focalizamos en encontrar el posible receptor de las glicoproteínas del epimastigote en el tracto digestivo del insecto. A partir de extractos proteicos de intestino y recto de ninfas de 4 estadio de *T. infestans* realizamos una purificación utilizando una columna de lactosil-sefarosa, que une proteínas con afinidad por lactosa. El eluido específico (200mM Lactosa) fue analizado por SDS-PAGE teñido por Coomassie coloidal y las bandas detectadas fueron analizadas por espectrometría de masa. Pudimos identificar dos lectinas, una de unión a galactosa y otra de unión a ramnosa que podrían ser los posibles ligandos de las glicoproteínas de la superficie del parásito. Estamos en proceso de clonarlas y caracterizarlas. Esperamos que los resultados obtenidos permitan comprender con mayor detalle la biología de *T. cruzi* y pueda ser capitalizado para el desarrollo de nuevas herramientas contra la Enfermedad de Chagas.

**Tipo de Presentación**

Póster.

**EV087****Caracterización del hábitat de *Lutzomyia longipalpis* en dos ecotopos en la ciudad de Corrientes, 2021.****Mierez M<sup>1,2</sup>, Rea MJ<sup>1</sup>, Espinosa M<sup>2</sup>, Encina RR<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>CENPETROP- Facultad de Medicina-UNNE, Corrientes, Argentina. <sup>2</sup>Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, UNNE., Corrientes, Argentina**Resumen**

Los miembros de la subfamilia Phlebotominae, del género *Lutzomyia* son importantes en la transmisión de enfermedades como la leishmaniasis. *Lutzomyia longipalpis* es una especie fuertemente vinculada a la transmisión de la leishmaniasis visceral americana y cuya presencia en la ciudad de Corrientes está registrada desde el año 2009.

Objetivo: caracterizar las condiciones microambientales de dos viviendas con registros previos de colonización por *Lu. longipalpis* en la zona urbana de la ciudad de Corrientes.

El estudio se llevó a cabo utilizando trampas luminosas CDC durante tres noches consecutivas, semanalmente y trampas de Rioux durante 15 días consecutivos. La identificación de especies se realizó según claves específicas. En cada domicilio muestreado se encontró para obtener datos sobre factores microambientales del lugar, presencia de animales domésticos, manejo de desechos, tipo de pisos, tipo de paredes, vegetación.

Se capturaron en total 107 flebotomos en ambos domicilios con trampas CDC. *Lu. longipalpis* representó un 94% (n=101), *Ev. complejo cortelezzii-sallesii* 1% (n=1), *Ev. cortelezzii* 1% (n=1) y *Lutzomyia* spp. 2%. *Brumptomyia* representó un 1% y uno identificado de la subfamilia Phlebotominae (1%).

En ambas viviendas se encontró heterogeneidad en el tipo de vegetación y en la presencia/ausencia de animales en el domicilio, no así en las características de la vivienda (paredes de material, techos de zinc, iluminación eléctrica, peridomicilio con pisos de cemento y sin troncos caídos. Además, cuentan con servicio de recolección de residuos.

*Lutzomyia longipalpis* fue la especie predominante. En estas viviendas se ha visto que están bien adaptadas al ambiente domiciliar y que utilizan los recursos del ambiente antrópico ofrecidos por el hombre como lugar de refugio, para desarrollar su ciclo biológico y garantizar su alimentación.

**Tipo de Presentación**

Póster.