

## RESUMENES DE LAS COMUNICACIONES

## Clínica y tratamiento: CT

**CT1. Chagas congénito en un recién nacido (RN) con probable infección por VIH. C GUAYMASI, R KIRSCHBAUM, M ZAIDENBERG, C MONLA, TA COPA, M MOROSINI, M DEL BARCO.**

*Servicio de Neonatología Hospital Materno-Infantil Salta; Servicio Nacional de Chagas, Salta. Gral. Güemes 125. Primer piso, CP 4400, Salta. FAX 087-310684.*

**Objetivos:** Describir la evolución clínica de un RN con diagnóstico de infección por VIH y enfermedad de Chagas congénita con compromiso meningo-encefalic. RN de término, peso adecuado para la edad gestacional (EG), madre de 28 años con infección por VIH de 2 años aproximadamente. En el embarazo las pruebas serológicas para Chagas fueron negativas. A los 30 días del parto se repitieron las pruebas: Chagas HAI 1/32 e IFI 1/64, ELISA reactiva. Parto normal, sexo F, Apgar 8/9, PN :2720, EG 37 semanas. Comenzó luego del nacimiento con dificultad respiratoria, abdomen globuloso con hepato esplenomegalia, petequias en tronco y raíz de miembros, edema generalizado y palidez. Se asumió como sepsis y se medicó con ATB según normas. Se colocó en incubadora con O<sub>2</sub> con halo y se aisló de acuerdo a normas de bioseguridad. Laboratorio: leucopenia con plaquetopenia; Rx tórax: infiltrados intersticiales bilaterales, cardiomegalia. Rx abdomen : con escaso aire y hepatoesplenomegalia. Ecografía cerebral : signos de leucomalacia periventricular, megacisterna magna. HAI Chagas negativa, HAI Toxoplasmosis 1/64 ; VIH: Elisa reactiva ; Western blot positivo para las 4 bandas. No se hizo carga viral Al quinto día impresionaba una evolución favorable, con cultivos negativos pero presentó un marcado descenso de petequias, hemograma : leucopenia , sin plaquetas. Tiempos de coagulación y protrombina aumentados; TGP y TGO levemente aumentadas. A los 12 días el RN se mantuvo estable; hemograma : normal. TGP : 132 UI/ml, TGO :71 UI/ml FA :708 UI/ml. Eco cerebral : hipoplasia del hemisferio cerebeloso izquierdo. A los 18 días de vida comenzó con fiebre pero siguió compensado. Hemograma GB 10800 :76,3,0,0,1. Dos días luego del comienzo del síndrome febril, el RN se agravó. Se asumió como una infección intrahospitalaria observándose una leve plaquetopenia. LCR : Se observaron *T.cruzi* circulantes y se inició tratamiento con benznidazol a 5 mg/kg/d; las pruebas serológicas en este momento fueron: HAI neg, Elisa IGG neg. El desmejoramiento fue progresivo, presentando sintomatología neurológica con convulsiones subintrantes ; falleció a los 28 días de vida. No se practicó autopsia.

**CT2. Aspectos clínicos de la enfermedad de Chagas congénita en Salta, 1980-1996. M ZAIDENBERG.**

*Servicio Nacional de Chagas, Gral. Güemes 125, Primer piso, Salta, CP 4400. FAX 087-310684.*

**Objetivos:** Caracterizar los aspectos clínicos de 79 RN y lactantes con diagnóstico (Dx) de enfermedad de Chagas congénita en el periodo 1980-1996 en la provincia de Salta. Comparar la expresión clínica entre los grupos de acuerdo al momento diagnóstico y al número de signos. Se categorizaron los grupos de acuerdo al número de signos (uno o ninguno versus 2 y más) y la etapa diagnóstica para construir una tabla de contingencia. Se usó la prueba del chi<sup>2</sup> (M-H). Grupo 1 (Dx primer mes de vida, n=55); nueve RN asintomáticos (16.4%); en relación al número de signos, su distribución fue la siguiente: 5 = 1 signo (9.1%) ; 7 = 2 signos asociados, 12.7%; 9 = 3, 16.4, 11 = 4, 20.0%; 9 = 5, 16.4%; 5 = 6 signos, 9.1%. La distribución absoluta y relativa de los signos fue : 9 hepatomegalia 39, (70.9%), esplenomegalia 29 (52.7%), ictericia 34 (61.8%), anemia 29 (52.7%), prematuridad 23, (41.8%), edema generalizado 5 (9.1%), meningoencefalitis 5 (9.1%). Dos RN fallecieron ; uno por sepsis a *Pseudomonas aeruginosa* y el segundo por una meningo-encefalitis por co-infección con el VIH. Además Los RN de este grupo, presentaron en algunos casos una combinación de signos y síntomas atribuibles a enfermedades del grupo etéreo: sufrimiento fetal agudo, asfixia, depresión grave, sepsis bacteriana, diarrea, síndromes de dificultad respiratoria, y complicaciones metabólicas. Grupo 2 a y b, (Dx 2-21 meses, n = 24) : 16 asintomáticos, (66.7%), 5 con hepatomegalia (20.8%), 1 esplenomegalia, antecedentes de ictericia y prematuridad, (4.2%), 1 hepatoesplenomegalia, anemia y prematuridad, (4.2%) y 1 anemia, (4.2%). Al comparar los grupos, el chi<sup>2</sup> fue de 29.16, p= 0.0000. Lo que indicó básicamente que se trataba de 2 poblaciones diferentes. La experiencia de la enfermedad de Chagas congénita en el grupo I con una mayor morbilidad está expuesta al sesgo de la selección, en tanto se trata del hospital de referencia del área obstétrico-neonatal, en el que se asiste a población de alto riesgo. No obstante esta observación, en general en nuestro medio la presentación clínica presenta un perfil que es oligosintomático o asintomático y su detección debe estar supeditada al control sistemático de las embarazadas y sus recién nacidos.

**CT3. Variaciones en los niveles de VCAM-1 y P-Selectina solubles, en niños chagásicos trata-**



dos con benznidazol, en fase indeterminada. S LAUCELLA, C LUNA, S SOSA, E VELAZQUEZ, N PRADO, A DE RISSIO, A SINAGRA, E SEGURA, A RIASTE.

*Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chabén". Bs. As. Argentina.*

Las Moléculas de Adhesión (MA) juegan un rol importante en la respuesta inmune e inflamatoria. En estudios previos, hemos demostrado en el suero de pacientes chagásicos crónicos niveles elevados de VCAM-1 y P-selectina solubles (sVCAM-1 y sP-selectina) asociándose particularmente sP-selectina al grado más severo de compromiso cardíaco. En este estudio, se analizaron las variaciones en los niveles de sVCAM-1 y sP-selectina por efecto del tratamiento específico en niños chagásicos de 6-12 años, de área endémica, en fase indeterminada. Se establecieron dos grupos: Tratado (T) (n=12) y Placebo (P) (n=5). Los niveles de estas MA se midieron por ELISA de captura al tiempo cero, 1 año y 4 años post-tratamiento (pt) y se correlacionaron con la serología convencional, el xenodiagnóstico (XE) y los hallazgos electrocardiográficos (HE). En el grupo T se establecieron 3 subgrupos de acuerdo a las variaciones de sVCAM-1 y sP-selectina a lo largo del período en estudio: T1- con sVCAM-1 y sP-selectina estables (n=3, p>0.05); T2 con aumento progresivo de sVCAM-1 (n=5, p<0.05) y sP-selectina (n=6, p<0.05); T3-con disminución de sVCAM-1 y P-selectina (n=3, p<0.01) al año e incremento a los 4 años pt (p<0.05). En el grupo T, sVCAM-1 mostró correlación con la técnica de inmunofluorescencia (r=0.42, p<0.05). Sólo en T3 la disminución de VCAM-1, pero no la de P-selectina, se asoció a una disminución en los títulos de ELISA a los 4 años pt (p<0.01). En el grupo P, se detectaron 2 subgrupos P1 y P2 similares a T1 y T2. No se observó correlación entre los niveles de las MA y el XE a los 4 años pt, y los HE en los grupos T y P. Las variaciones en los niveles iniciales de estas MA y su monitoreo en los pacientes chagásicos en fase indeterminada, permitiría distinguir poblaciones de pacientes con diferente grado de sensibilidad a la terapia específica. El descenso temprano de VCAM-1 asociado al de los niveles de anticuerpos sugiere su valor como marcador precoz de eficacia terapéutica.

#### CT4. Infección por VIH y enfermedad de Chagas. A SINAGRA<sup>1</sup>, C LUNA<sup>1</sup>, E DINESTEIN<sup>2</sup>, C RODRIGUEZ<sup>2</sup>, E SEGURA, A RIASTE<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Parasitología Dr. Mario Fatala Chabén,

<sup>2</sup>Hospital Zonal de Agudos Evita, <sup>3</sup>Hospital Municipal Dr Cosme Argerich

Desde Enero de 1995 hasta Junio de 1997 se evaluó en 62 pacientes VIH positivos la asociación con enfermedad de Chagas (ECH) mediante estudios serológicos (ELISA, HAI e IFI) y parasitológicos (Strout y eventualmente hemocultivo). El estudio de LCR se realizó esporádicamente al presentarse manifestaciones neurológicas. En caso de lesión cutánea y/o cerebral se realizó estudio histopatológico de las biopsias. Doce de 62 pacientes (19,3%) fueron reactivos para *T. cruzi*

y VIH. Todos los pacientes mostraron compromiso neurológico. Se detectaron parásitos en sangre en 12/12 pacientes por el método de Strout, en LCR en 2/3, en biopsias cerebrales en 2/2 y en biopsias cutáneas en 1/1 paciente. Los resultados serológicos fueron positivos en 9/12, discordantes 2/12 y negativo en 1/12. Este paciente no reactivo, presentó lesiones en la TAC compatibles con chagoma cerebral y parasitemia patente por Strout. El recuento de linfocitos CD4+ <200/mm<sup>3</sup> fue un hallazgo frecuente. Los pacientes fueron tratados con benznidazol a la dosis de 5 mg/kg/día durante 30 días. La evolución fue satisfactoria en 5/12 y letal en 7/12. En uno de estos pacientes la necropsia reveló compromiso sistémico por *T. cruzi*. La asociación VIH y ECH debe ser considerada de alto riesgo, por lo que es necesario determinar la reactividad serológica anti *T. cruzi* en todo paciente VIH + y evaluar periódicamente el estado evolutivo de su infección por VIH. Aquellos pacientes con recuentos linfocitario CD4+ < 400 / mm<sup>3</sup> serán considerados de riesgo y serán vigilados clínicamente. La presencia de fiebre, signos neurológicos, signos de miocarditis, lesiones de piel o lesiones encefálicas detectadas por TAC, deberán alertar sobre la posible reactivación de la ECH; muestras seriadas de sangre se examinarán exhaustivamente para la detección de parásitos. Ante la falta de diagnóstico diferencial sería posible instaurar profilaxis primaria evaluando la respuesta clínica. Cuando el recuento de CD4+ sea <200 / mm<sup>3</sup> se podría realizar profilaxis primaria a bajas dosis. Para evitar recurrencias debería considerarse el tratamiento preventivo permanente.

#### CT5. Manifestaciones neurológicas en pacientes con Enfermedad de Chagas y Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. J N VELASQUEZ, M CORTI, R PEREZ BIANCO, M CERMEJ, M CANDELA, M TEZANOS PINTO, E J BELLEGARDE, O FIGUEIRAS, L VIGNA, L CAROLIS, L H KUO.

*Academia Nacional de Medicina; Hospital "Francisco Muñiz"; Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología, UBA.*

El propósito de este trabajo es la descripción de los hallazgos neurológicos en la asociación de la enfermedad Chagas-SIDA. Se efectuó un estudio retrospectivo de 6 pacientes con seroreactividad para el virus del HIV y SIDA con enfermedad de Chagas. El diagnóstico parasitológico se efectuó por observación del *T. cruzi* en fluidos o en muestras histológicas (método directo) y utilizando métodos de HAI e IFI en sangre. Se siguieron los siguientes criterios neurológicos: manifestaciones focales o no focales; estudios por imágenes (TAC y RNM): normal, lesiones únicas o múltiples con o sin refuerzo por contraste. En el grupo estudiado la edad promedio fue de 26 años (19 a 36), todos de sexo masculino. Tres pacientes presentaban antecedentes de adicción endovenosa y permanencia en zona endémica. Los tres casos restantes eran pacientes hemofílicos que recibieron múltiples transfusiones. En dos casos se presentaron signos focales y en el resto no focales. Los estudios por imagen-



nes revelaron lesiones únicas o múltiples en cinco casos. Todos los pacientes tenían un recuento de CD<sub>4</sub> menor de 200. Se hallaron tripomastigotes en LCR de tres pacientes y amastigotes en muestras histológicas de los restantes. Sólo en tres casos se efectuaron serologías que fueron positivas. La enfermedad de Chagas es una importante causa de manifestación neurológica en aquellos pacientes de zona endémica con serología positiva para el HIV. El recuento de CD<sub>4</sub> menor de 200 podría ser un parámetro para iniciar un tratamiento profiláctico y los métodos directos serían los de elección para el diagnóstico de Chagas en estos pacientes.

**CT6. Fosfatasa alcalina placentaria en plasma de mujeres embarazadas chagásicas.** A SEMBAJ, C CARRIAZO, E SANZ, EJ CASTRO, A GONZALEZ\*, J MORENO BARRAL.

*Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas, \*\* Estadística, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba. \*Servicio Nacional de Chagas. CC 35, suc 16, 5016 Córdoba*

La fosfatasa alcalina placentaria (FA-PI), isoenzima termoestable de fosfatasa alcalina (FA) (E.C.3.1.3.1) se sintetiza en el sincitiotrofoblasto liberándose a la circulación en forma soluble. Su concentración plasmática se incrementa durante la gestación. Se han observado valores de actividad significativamente disminuidos de FA-PI en plasma de embarazadas con riesgo fetal, por lo cual se ha propuesto su empleo como marcador de maduración. Siguiendo la metodología diseñada en nuestro laboratorio (Clin Chem, 1992) hemos demostrado la presencia de una FA-PI ligada a membrana (FA-PI-Mr), no descripta hasta el momento en plasma de embarazadas normales a término. Como la enfermedad de Chagas frecuentemente produce alteraciones del tejido placentario (placentitis chagásica), nos propusimos estudiar además de la FA-PI-Mr, la actividad FA-Total (FA-T), soluble (FA-S) y FA-PI, con el objeto de conocer la posible utilidad de estos parámetros bioquímicos como marcadores del deterioro placentario en embarazadas chagásicas. Se estudiaron 45 embarazadas sanas (controles) y 70 con infección chagásica confirmada por tests serológicos. Se centrifugaron 4 ml de plasma a 105.000xg durante 120min. Una alícuota del sobrenadante y otra del sedimento se calentaron por 5 min a 65°C para cuantificar las FA termoestables (FA-PI y FA-PI-Mr). La actividad enzimática se determinó a 37 °C usando p-nitrofenilfosfato 3mM como sustrato y buffer DEA pH 9,8. Los resultados obtenidos muestran que en las embarazadas chagásicas la actividad FA-PI, en el sobrenadante de 105.000g es significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que en los controles. Los valores son: en chagásicas 97,1 U/l (ES 7) y en controles 110,9U/l (ES 7,7). No se encontró diferencias significativas en la actividad FA presente en el sedimento (FA-PI-Mr). El estudio de un número mayor de casos nos permitiría sacar conclusiones acerca de la utilidad de esta enzima como marcador de deterioro placentario y su relación con riesgo perinatal en el recién nacido de madre con enfermedad de Chagas.

**CT7. Igm anti T. cruzi, como herramienta para el diagnóstico del Chagas agudo.** GP BARBIERI, M BRIZ, L SUAREZ, L PARADELO.

*Centro de Enfermedad de Chagas Hospital Independencia. Santiago del Estero. 4200.*

Se estudia la sensibilidad de un método Elisa para la detección de Ac anti T Cruzii, tipo IgM, de Lab. Wiener. Se examinaron muestras de 94 pacientes. Un grupo de 44 niños con parasitología positiva (Strout), 42(95%) fueron positivos para IgM. Otro de 21 pacientes, con tratamiento específico completado (30 días) 15 de ellos (el 71%), continuaba positivo. A los 60 días de 5 pacientes, solo 1 (20%), seguía positivo. A los 90 días, 2 pacientes estudiados, ambos negativos. En 7 recién nacidos, hijos de madre chagásica, solo 1 fue positivo, un Chagas congénito con strout positivo. El grupo de 15 personas con Chagas latente, serología de tipo IgG (positiva), resultaron todos negativos para Ac tipo IgM. Los sueros examinados eran de la seroteca del Centro de Chagas y de pacientes que concurren a la consulta. Creemos que el método puede servir como una herramienta mas, en el diagnóstico del Chagas agudo.

**CT8. Infectados chagásicos en fase indeterminada con mas de 15 años de seguimiento-evaluación de la quimioterapia específica.** D FABBRO, E ARIAS, M STREIGER, R PIACENZA, M INGARAMO, M DEL BARCO, N AMICONE.

*C.I.E.N. Fac. de Bioquímica y Cs. Biológicas-U.N.L.-Paraje El Pozo- 3000 Santa Fe.*

La historia natural de la enfermedad de Chagas requiere el seguimiento de pacientes por largos períodos de tiempo, y en infectados crónicos es discutida la eficacia de las drogas tripanocidas conocidas. Se estudió la evolución clínica y serológica en un grupo de infectados chagásicos crónicos asintomáticos que recibieron tratamiento con nifurtimox o benznidazol y se comparó con un número similar de pacientes no tratados. Se realizó un seguimiento mayor de 15 años en 74 infectados crónicos sin signos ni síntomas de MChCr (jóvenes y adultos), que permanecieron en un área de baja endemicidad. El 84% de los pacientes tenían < de 40 años de edad, siendo el rango más frecuente de 21 a 30 años. Estudios realizados: serológicos (HAI-IFI-ADc/2ME); parasitológicos (Xd al 72%); y clínicos (ECG-Rx de tórax). Se usó la clasificación clínica propuesta por Kuschnir. Sobre 37 infectados tratados con drogas tripanocidas evolucionó uno de 32 años (G0@GII). Sobre 37 pacientes que permanecieron sin tratamiento enfermaron tres: 33 años (G0@GII), 38 años (G0@GII) y 40 años (G0@I). Se realizó Xd pre y post-tratamiento a 29 infectados, en 24 fue (+) el estudio previo. Los controles post-tratamiento fueron (-), excepto en un paciente. En los infectados no tratados, el Xd fue (+) en 4/24, para el resto fue reiteradamente (-) con un máximo de 8 Xd/paciente. Evaluación del nivel de Ac por IFI: 94% de los pacientes tratados presentó títulos  $\leq 1/64$ , mientras en el 67% de los no tratados fue  $\geq 1/128$ . La serología persistió (+) en ambos grupos, ex-



cepto en 2 jóvenes que recibieron tratamiento tripanocida a los 14 y 15 años de edad, en quienes la negativización persistente -para las 3 reacciones serológicas- se observó después de 3 años de finalizado el tratamiento. Se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en los títulos serológicos de pacientes tratados (media geométrica: 47,6) frente a los no tratados (media geométrica: 94,4). La evolución clínica de los infectados chagásicos en fase indeterminada, de ambos grupos, es benigna ya que enfermaron 5,4% después de 15 años de estudio. Fue menor la evidencia de MChCr en los pacientes tratados frente a los no tratados.

**CT9. Meningoencefalitis fatal por *T. cruzi*: un caso atípico.** R ALETTI<sup>1</sup>, M STREIGER<sup>2</sup>, AM JOZAMI<sup>1</sup>, N DE MARCO<sup>1</sup>, E GIRALDEZ<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto Médico de Diagnóstico y Tratamiento. 25 de mayo 3240. 3000 Santa Fe. <sup>2</sup> C.I.E.N.-Fac. de Bioquímica y Cs. Biológicas. U.N.L. Paraje El Pozo. 3000 Santa Fe.

La paciente de 62 años, residente en la ciudad de Santa Fe, ingresa a Unidad Coronaria de un sanatorio privado por "arritmia" que no fue corroborada. Exámenes de laboratorio y ECG normales. Sus familiares la notaban depresiva desde hacía un mes. Al 3° día aparece confusión, con paresia facio-braquio-cubital izquierda, Babinsky homolateral y leve rigidez de nuca. TAC mostró área hipodensa frontal izquierda, se interpretó como isquémica. Se medicó con antiagregantes y dexametasona. Al 5° día profundiza el cuadro. Ante falta de correlación entre clínica y TAC, se solicita otra. No muestra diferencia con la anterior. Comienza con temp. (38,5°C) y acentúa rigidez de nuca. Agrega un Parinaud, se sospecha lesión protuberancial. El LCR muestra valores normales. Aumentan los GB, Glucemia y Uremia. Se agrega aciclovir y ampicilina. Al 7° día sigue febril, profundiza el coma y la plejía. Se observa respiración periódica. Bacteriología del LCR negativa. Una RMN mostró varias lesiones supra e infra tentoriales, que captaban el medio de contraste, compatibles con abscedaciones. Reacciones de aglutinación e inmunofluorescencia para Toxo: (-). HIV por Elisa: (-). Al 10° día, con la sospecha de estar frente a una meningoencefalitis de origen micótico se realizó nueva punción lumbar. En LCR se observan organismos unicelulares compatibles con Trypanosomas. Se confirman en sangre, con Strout y Xd, *T. cruzi*. ADs/c2-ME: 1024/512, HAI: 1/64, IFI: 1/128. No había signos clínicos ni ECG de miocarditis. Se suspendieron corticoides e inició tratamiento con benznidazol. Al 14° día, luego de empeoramiento progresivo, paro respiratorio. Se la coloca en ARM. Agrega signos de tronco, trastornos hemodinámicos y fallece. [A los 12 días la lectura del Xd fue (+)]. Consideramos atípico este caso ya que se produjo en una persona que no contaba con factores de riesgo detectables, salvo la depresión para el desenlace clínico, ni para sospechar infección chagásica, reciente o previa. En un control médico laboral de 1978 consta R. Machado-Guerreiro anticomplementaria. Los análisis últimos no detectaron IgM específica. ¿Se trató de un Chagas Agudo o un Crónico reactivado?

**CT10. Serodiagnóstico y valoración clínica del diagnóstico prenatal de la Enfermedad de Chagas.** F BERENSTEIN, R KÖLLIKER FERS, A HAKIM, J PALACIOS, A BEDOYA\*, G RAZZITTE.

Htal. RAMOS MEJÍA, Urquiza 609, Bs. As., Argentina. \* C.B.C., Universidad de Bs. As.

Nuestro objetivo es evaluar la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas a efectos de aplicar la terapéutica apropiada, en el momento más conveniente. Se estudiaron 1200 mujeres embarazadas, durante un período de 12 meses, las cuales fueron controladas en el hospital. La edad de las pacientes osciló entre 15 y 44 años. Los métodos de inmunodiagnóstico se basaron en la valoración del título de anticuerpos específicos: Inmunofluorescencia Indirecta y Hemaglutinación Indirecta, con un título de corte de 1/32. El porcentaje de pacientes seropositivas fue del 9,66 %, a las cuales se les realizó un seguimiento conjunto con el servicio de Cardiología. De estas pacientes, el 37,71% tenía conocimiento de haber contraído la enfermedad, pero solamente el 7,14% de ellas se sometía a controles médicos. La interconsulta con Cardiología reveló que 32,14% de las pacientes presentaba alteraciones cardíacas, pero sólo el 3,57% requirió cesárea. En cuanto a la procedencia geográfica, se verificó que provenía de zonas endémicas el 57,14% de las pacientes seropositivas y el 17,17% de las seronegativas. En conclusión, consideramos que es ventajoso realizar el diagnóstico serológico como rutina durante la gestación ya que permite extremar los cuidados médicos tanto en las gestantes como en los neonatos, además de poder realizarse en forma sencilla y a costos accesibles.

**CT11. Tratamiento y seguimiento de 147 niños de 1 a 14 años, infectados por *T. cruzi*, en el área rural del Departamento Pellegrini, en vigilancia entomológica.** Santiago del Estero-Argentina, 1997. S BLANCO<sup>1</sup>, C SPILLMAN<sup>1</sup>, J ZARATE, Y FLORES<sup>2</sup>, J MEDINA<sup>2</sup>, S SOSA ESTANI<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>SN Chagas Córdoba, <sup>2</sup>Servicio Nacional de Chagas Tucumán, <sup>3</sup>CEDIE/ANLIS "CG Malbrán".

El Programa Nacional de Control de Chagas, implementó en el departamento Pellegrini, la metodología de Participación Comunitaria para el rociado químico y la vigilancia entomológica de las viviendas. Fueron tratadas 39 comunidades, y se capacitaron 132 Agentes Comunitarios. En el año 1994, posterior al rociado de ataque se realizó el tamizaje serológico en 3196 niños para detectar infección por *T. cruzi*. Se realizó examen clínico a 147 niños con infección confirmada, a través de las técnicas de HAI cuantitativa y ELISA cualitativa. Todos los niños presentaron examen clínico normal. El 2,0% (3/144) presentaron BIRD inespecífico. Posteriormente estos niños fueron tratados con Benznidazol (5mg/kg/día durante 30 días). El 4,8% de los niños presentó algún síntoma de intolerancia (rush cutáneo, náuseas, cefalea o fiebre) al medicamento, los cuales desaparecieron al disminuir la dosis, completando el tratamiento. La media del log<sub>2</sub> de la inversa de los títulos de HAI



desminuyó de 4.23 antes del tratamiento, para 2.40 después de 20 meses de realizado el tratamiento ( $p < 0.0001$ ). A los 20 meses post/tratamiento se encontró una negativización serológica en 37 niños de 75 tratados (49.3%) en el rango de edad de 0 a 4 años, en 20 de 61 (32.7%) en el rango de 5 a 9 años y 0 de 11 (0%) en el rango de 10 a 14 años. Se concluye que para los niños de 1 a 14 años de edad: 1- Es posible operativamente en áreas rurales, la detección de niños infectados por *T. cruzi* y su tratamiento ambulatorio. 2- El tratamiento debe tener supervisión del Sistema de Salud. 3- En niños de 1 a 9 años de edad, a pesar del corto tiempo de seguimiento post/tratamiento, la negativización serológica es considerablemente elevada. 4- Entre 1 y 14 años de edad, la intolerancia registrada al tratamiento implementado es baja.

**CT12. Efecto de una nueva isoxazolilnaftoquinona de *Trypanosoma cruzi*** GE GRANERO, \*P PAGLINI, \*AR FERNANDEZ, M MARTINEZ DE BERTO-RELLO.

Dpto. De Farmacia, Fac. Cs. Químicas (U.N.Cba.). AP 4, CC 61, 5000 Córdoba. \*Cát. Física Biomédica, Inst. de Fisiología, Fac. Cs. Médicas (U.N.Cba.). Santa Rosa 1085, 5000 Córdoba, República Argentina.

Frente a la necesidad de hallar nuevos fármacos contra el agente etiológico de enfermedad de Chagas y en base a las propiedades biológicas y terapéuticas de naftoquinonas e isoxazoles, se resolvió determinar el efecto de la sal de sodio de 2-hidroxi-N-(3-metil-5-etil-4-isoxazolil)-1,4-naftoquinona-4-imina (1). El estudio sobre las formas tripomastigotes, cepa Tulahuén, de *T. cruzi* se realizó usando muestras de sangre obtenidas por desangrado de ratones albinos suizos infectados. La droga se solubilizó con una solución fisiológica y se ensayaron las siguientes concentraciones: 50, 100, 150, 300 y 400  $\mu\text{g/ml}$  de sangre. Los resultados obtenidos demostraron que 1 inhibió la motilidad de las formas tripomastigotes en forma dependiente de la concentración de droga ensayada, siendo las concentraciones de 150, 300 y 400  $\mu\text{g/ml}$  de sangre las más efectivas causando la inmovilización total de los tripomastigotes en un período de tiempo inferior a 30 horas; las concentraciones de 50 y 100  $\mu\text{g/ml}$  de sangre también causaron la inmovilización de los tripomastigotes pero el tiempo requerido fue mayor. Además no se pudieron detectar parásitos en muestras de sangre de animales inyectados con las formas tripomastigotes inmovilizadas in vitro. Estos resultados señalan la potencialidad de esta nueva isoxazolil-naftoquinona en la quimioterapia de la enfermedad de Chagas.

Ciertas drogas tricíclicas de uso habitual en clínica psiquiátrica tienen un efecto letal sobre tripomastigotes y epimastigotes de *T. cruzi* por provocar disrupción de la membrana del parásito en experimentos "in vitro"; así mismo modificaron la evolución de la infección aguda letal en ratones. El presente trabajo evalúa la capacidad de clomipramina (CLO) para modificar los estadios de la infección experimental. Se utilizaron 200 ratones; N: sin infectar, el resto infectados con 50 tripomastigotes de *T. cruzi*, cepa Tulahuén/animal divididos en A) sin tratar, B) tratados con CLO 5 mg/día por 30 días y C) tratados con CLO 40 mg a los 60 min post-inoculación (pi) y 30 días pi. La efectividad de la droga se valoró hasta los 135 días pi analizando parasitemia, serología, electrocardiografía, sobrevida y funcionalidad de los receptores  $\beta$ -cardíacos. Las parasitemias de los grupos tratados fueron menores que la de los sin tratar ( $p < 0.01$ ), negativizándose a partir de los 35 días pi. La serología fue positiva en todos los grupos. La mortalidad de los grupos B y C disminuyó en un 30%, sin cambios significativos en los trastornos electrocardiográficos típicos de esta infección. El análisis de los receptores se efectuó en fracción microsomal de ventrículos con dihidroalprenolol tritido con y sin propranolol. La afinidad ( $K_d$  en nM) fue:  $3.77 \pm 0.31$  en N y de  $5.72 \pm 0.68$ ,  $7.04 \pm 0.46$ , y  $11.79 \pm 1.58$  en los ratones sin tratar en los estadios agudo, intermedio y crónico respectivamente. La densidad ( $B_{max}$  en fmol/mg.prot) fue:  $73.65 \pm 2.88$  en N y de  $78.17 \pm 4.27$ ,  $77.46 \pm 2.01$  y de  $54.19 \pm 4.3$  en los tres estadios sin tratar respectivamente. CLO no modificó estos parámetros salvo la afinidad de los receptores en el estadio crónico, la cual fue similar a la de los ratones no infectados. Estos resultados muestran que si bien CLO tiene efecto letal sobre el *T. cruzi*, reduciendo la parasitemia y la mortalidad del huésped, no alcanza a revertir la evolución natural de la infección en este modelo experimental.

**CT14. Desarrollo de un ensayo inmunoenzimático para la evaluación del tratamiento de la Enfermedad de Chagas.** AM RUIZ, E VELAZQUEZ, S SOSA ESTANI, B PORCEL, EL SEGURA.

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatale Chaben". Av. Paseo Colón 568, 1063 Buenos Aires, Argentina.

La evaluación de la eficacia del tratamiento terapéutico en la Enfermedad de Chagas crónica es generalmente encarado mediante la búsqueda en sangre periférica del *Trypanosoma cruzi* o sus componentes, ya que la desaparición sostenida del parásito es un inequívoco criterio de cura. La serología convencional es de utilidad relativa, ya que permanece reactiva por largos periodos después de realizado el tratamiento en nuestra experiencia en Argentina. En este trabajo se describe el desarrollo de un ensayo inmunoenzimático, usando como antígeno una proteína flagelar recombinante de *T. cruzi* (F29) y su aplicación para evaluar la cura de pacientes sometidos al tratamiento con benznidazol<sup>TM</sup>. El clon codificante de la proteína total fue identificado y caracterizado a partir del rastreo

**CT13. Evolución de la infección por *Trypanosoma cruzi* en ratones tratados con clomipramina.** HW RIVAROLA, AR FERNANDEZ, JE ENDERS, N MILER, S. GEA, JA PALMA, P PAGLINI.

Cát. de Física Biomédica, Inst. de Fisiología, Fac. Cs. Médicas (U.N.Cba.). Santa Rosa 1085 - 5000 Córdoba.



inmunológico de una biblioteca de expresión construida en Igt11, usando un suero de conejo anti fracción flagelar. Este clon fue subclonado en el vector de expresión pMAL-p2 y expresado en *Escherichia coli*. Esta proteína está altamente conservada en trypanosomatidos, no se encuentra en *Leishmania* y es capaz de ligar el ion calcio, pudiendo estar involucrada en la penetración del parásito a la célula. El ensayo inmunoenzimático se llevó a cabo sensibilizando placas de 96 orificios con 50 µl/pocillo de la proteína fusionada a MBP (proteína ligadora de maltosa) (20 µg/ml). Ciento seis niños infectados entre seis y 12 años de edad (55 tratados con benznidazol 5 mg/kg/día y 51 placebo) fueron estudiados mediante este ensayo. Se tomaron muestras de suero a los 3, 6, 12, 18, 24 y 48 meses después del tratamiento. Esta evaluación mostró que el 35.7% de los chicos tratados negativizó la reactividad hacia F29 a los 6 meses post-tratamiento y un 62.1% a los 48 meses, mientras la serología convencional permaneció reactiva en todos los casos. La cinética de desaparición de la reactividad hacia el antígeno también fue estudiada por inmunoblotting. Los resultados indican que F29 podría constituir un marcador temprano de desaparición de la infección, de utilidad para la evaluación de cura terapéutica. Este trabajo recibió financiación del MSyAS de Argentina, de la RTPD network (SIDA/SAREC) y del TDR, WHO.

### Epidemiología y Control: EC

**EC1. Estudio seroepidemiológico para Enfermedad de Chagas e Hidatidosis en población del norte del Partido de Carmen de Patagones. Provincia de Buenos Aires. Argentina** J BOLPE, J OSORIO, M CONSTANTINI, A LEMOS, O TORNO, R COSTAMAGNA, S GARCIA, MI PRAT, G NIIZAWA, B SANTAMARIA.

*Cátedra de Parasitología Clínica. Univ.Nac.del Sur. San Juan 670. 8000. Bahía Blanca. Argentina.*

En razón de no existir datos seroepidemiológicos humanos para Enfermedad de Chagas e Hidatidosis en el norte del Partido de Carmen de Patagones, es que efectuamos el presente estudio descriptivo para las dos enfermedades señaladas. Sobre una población de 783 personas (54% bolivianos y 46% argentinos) se tomó una muestra de 565 para estudios serológicos de Enfermedad de Chagas (ELISA, HAI y TIFI) e Hidatidosis (HAI y DD5). Cinco pacientes eran menores de 5 años. Se diagnosticó serología positiva compatible con Enfermedad de Chagas con la positividad de un par serológico. Los resultados mostraron que si bien 106 (18,76) de los estudiados presentó alguna reacción positiva, la seroprevalencia en la población estudiada, con dos reacciones positivas fue del 11,7 % (66 casos). Las tres reacciones positivas se presentaron en 57 casos. Todas las HAI positivas dieron TIFI y ELISA positivas y todas las TIFI positivas fueron acompañadas de ELISA positiva. De los exámenes clínicos y electrocardiográficos,

se encontró un solo caso donde se sospechó transmisión vertical. El 46% de los positivos mostró algún trastorno electrocardiográfico, 77% de los cuales podrían ser compatibles con los observables en cardiopatía chagásica. Uno era menor de 14 años. Un paciente había sido intervenido por megacolon meses atrás. Con referencia a Hidatidosis la seroprevalencia hallada con HAI fue 1,07%, mientras que confirmadas con DD5 este valor descende a 0,71%. Los datos obtenidos sugieren, especialmente para Enfermedad de Chagas, que es conveniente continuar con este estudio, máxime si se tiene en cuenta la presencia de triatominos en la zona y el alto porcentaje de población migratoria proveniente de Salta, Jujuy y Bolivia. La seroprevalencia en Hidatidosis no difiere de lo hallado previamente por otros autores.

**EC2. Seroprevalencia de Enfermedad de Chagas en Ushuaia.** M MALLIMACI, C SIJVARGER, A DATES, M ALVAREZ.

*Unidad Inmunología y Hemoterapia del Regional Ushuaia. 12 de octubre y Maipu. (9410) Ushuaia.*

Objetivo: Conocer la seroprevalencia para enfermedad de Chagas en Ushuaia y su epidemiología. Materiales y Métodos: Se analizaron en forma retrospectiva los datos epidemiológicos de 2.991 sueros provenientes de controles rutinarios de embarazo, preocupacionales, radicaciónes y estudios de pacientes con sospecha clínica de enfermedad durante el período 1/95 al 12/96. El diagnóstico se realizó por dos técnicas: Hemaglutinación indirecta y Elisa Inmuno Fluorescencia Indirecta. Resultados: 203/2.991 fueron reactivos (6,78%), 6 discordantes (0,20%). Se obtuvieron datos epidemiológicos en 172/203 seroreactivos (84,73%) 74/172 son extranjeros (43,02%): 72 bolivianos (97,30%) y 2 chilenos (2,70%) 98/172 son argentinos (56,98%): 34 Salta y (34,69%), 29 Nordeste (29,59%), 12 Sgo. del Estero y Tucumán (12,24%), 12 Córdoba, Sta.Fé y Bs.As. (12,24%), 6 Cuyo (6,12%), 5 Patagonia (5,10%). Conclusiones: 1) El 100% de los seroreactivos, con datos epidemiológicos, son inmigrantes provenientes de zona endémica. 2) El 97,39% de los extranjeros seroreactivos son bolivianos testeados en sus controles de embarazo (50/72) y preocupacionales (22/72). Tienen un promedio de tres años de residencia 3) El 2,70% de los extranjeros son chilenos. Esta baja prevalencia se debe a que la gran mayoría de los residentes chilenos provienen del sur. 4) 76. 53% de los argentinos proceden del norte y nordeste del país, el 5,1% provienen del sur no registrándose casos en Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego. 5) Si bien Tierra del Fuego es una zona libre de vinchucas, creemos de importancia realizar el doble par serológico para diagnóstico y disponer de medidas efectivas de control de la transmisión, como el control serológico del banco de sangre, control rutinario y de hijos nacidos de madres seropositivas. Para tal fin hemos intensificado la búsqueda de parásitos circulantes en recién nacidos mediante la implementación de un plan de seguimiento hasta el primer año de vida.



**EC3. Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en gestantes de la Provincia de San Luis**  
 R ARRIETA, N ROSSO, E DAQUINO, E ALVAREZ, N BISTUE, A NAZER, I PARPAL, A GIUNTA, S RODRIGUEZ, L CODAZZI, C SANCHEZ, Y GASTAL, J GARAY, M ARIAS, A GUTBAY, L PETRINO, R MORELLO, L FLORES, C NOBILE, H RIGO, A OGURA, S CIGNETTI, M D'ANDREA, S FILIPUZZI, D GODOY, C DEL CASTELLO, H ORLANDO, O ORELLANO, L PERRETTI, G RAZZETTO, O CAVALLIERI, A SEVILLANO.

Laboratorio de Salud Pública - Junín y Falucho - 5700 San Luis.

Siendo la provincia de San Luis zona endémica rutinariamente son procesados, en establecimientos estatales, los sueros de gestantes por la dupla de reacciones HAI-ELISA. Los sueros indeterminados lo son por IFI. En los años 1994 a 1996 se estudiaron 13 131 embarazadas cuya procedencia y resultados se informan:

Departamento	Nº muestras	Reactivas	Prevalencia %
La Capital	5800	611	10,5
Pedernera	4329	243	5,6
Ayacucho	584	114	19,5
Pringles	311	49	15,8
Junín	940	118	12,6
Chacabuco	426	65	15,3
Dupuy	708	41	5,8
San Martín	33	8	24,2

Conclusión: Al ser el presente la primera investigación sobre embarazadas los resultados, al compararlos con otros estudios (niños; bancos de sangre; varones de 18 años) son los esperados y atribuibles a las condiciones sociales, culturales, económicos, vivienda, habitat y distribución geográfica de la población.

**EC4. Prevalencia de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* en embarazadas de la ciudad de San Luis.** R ARRIETA, N ROSSO, E DAQUINO, H TORANZO.

Proyecto 7310 - Ciencia y Técnica - Universidad Nacional de San Luis. Laboratorio de Salud Pública de la Provincia de San Luis - Junín y Falucho-5700- San Luis

Se investigó, en 1996, un grupo de riesgo formado por mujeres en fase de embarazo, residentes en la ciudad de San Luis, con edades comprendidas entre 14 a 48 años, a fin de establecer la prevalencia de toxoplasmosis. Se ha demostrado la presencia en suero de IgG utilizando Hemaglutinación Indirecta ( HAI ) e Inmunofluorescencia Indirecta y de Ig M con HAI-2ME. Se han procesado 754 muestras de las que fueron reactivas 158 ( 20,9%). De éstas, una ( 0,6 % ) presentó títulos de 1:1024 que disminuyó a 1:128 con HAI-

2ME. Conclusiones: • El 20,9 % de prevalencia indica una protección en la madre beneficiosa para el hijo. • Este índice es similar al encontrado en EEUU ( 20% ). • El riesgo de toxoplasmosis congénita se valorará en su oportunidad, ya que a la fecha el lactante cuenta con dos meses de edad. • Para su seguimiento sólo siete ( 1,2 % ) de las 596 embarazadas serológicamente no reactivas, retornaron antes del parto, en dos oportunidades. Ninguna presentó seroconversión.

**EC5. Control serológico de la sangre a transfundir en la Provincia de San Luis.** E ALVAREZ, S RODRIGUEZ, D PUEBLA, R PORTELLA, E MERINO, S TODISCO, G ROCA, R ARRIETA.

Laboratorio de Salud Pública - Junín y Falucho-5700 San Luis

Con la finalidad de disminuir el riesgo de transmisión del *T. cruzi*, *T. pallidum*, HIV, HBV y HCV en las transfusiones sanguíneas se estudiaron 12 322 muestras de donantes voluntarios, entre 1994 a 1996, en cuatro bancos de sangre en la Provincia de San Luis. Se localizan en las ciudades de San Luis (uno público y dos privados) y (uno público) Villa Mercedes. Se utilizaron las técnicas de HAI-ELISA simultáneamente para Chagas; ELISA para HIV, HBV y HCV y VDRL para sífilis, ocasionalmente FTA/abs. Los resultados son los siguientes, expresados en porcentaje:

Localidad	Caract.	Nº Muestra	Chagas	HBV	HCV	HIV	Sífilis
San Luis	Público	5280	14,4	0,25	0,57	0,02	0,55
	Privado	2259	6,0	0,09	0,22	0,13	0,53
Villa Mercedes	Público	4783	5,4	0,29	0,29	0,04	1,70

Conclusiones : Considerando estudios anteriores realizados para Chagas, aún teniendo en cuenta la tendencia decreciente: 1. Continúa siendo preocupante la incidencia de la infección en los donantes de menor nivel socio-económico (14,4 vs 6,0) en la ciudad de San Luis. 2. Se confirma la importancia de la ubicación geográfica de V. Mercedes. HBV, HCV y HIV: no existe diferencia significativa; se está trabajando sobre más datos. Sífilis: Existe diferencia significativa entre los habitantes de ambas ciudades atribuibles a la idiosincrasia, a que la ubicación geográfica transforma V. Mercedes en nudo vial, ciudad de paso y preferentemente industrial.

**EC6. Prevalencia de la Enfermedad de Chagas en exámenes preocupacionales del Parque Industrial San Luis.** D PUEBLA, E GONZALEZ, G RODRIGUEZ, A D'AMICO, J SISO.

Cátedra de Parasitología y Micología. de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis Chacabuco y Pedernera, (5700) San Luis.

En el período comprendido entre los años 1991 a 1996, se realizaron exámenes preocupacionales de la-



boratorio a operados del Parque San Luis, que incluyeron pruebas serológicas para detectar la infección por *Trypanosoma cruzi* y que fueron estudiados en centros privados de la Ciudad de San Luis bajo la dirección de la Cátedra de Micología. Métodos: Se utilizaron las técnicas de Hemaglutinación indirecta e Inmunofluorescencia indirecta simultáneamente, de acuerdo a las recomendaciones del INDIECH. Resultados: Se analizaron los sueros de 2.917 postulantes a ingresar como operarios industriales, de los cuales 261 sueros resultaron Reactivos y 2.656 fueron No reactivos para ambas técnicas, con una prevalencia de 9%. Conclusiones: De acuerdo a datos de la bibliografía consultada, los resultados obtenidos muestran una prevalencia ligeramente superior a la de los años 1988 a 1991, en una población similar a la estudiada en el trabajo.

**EC7. Chagas: la comunicación social en la vigilancia vectorial.** AO GOMEZ, EL SEGURA.

*CEDIE/ANLIS Buenos Aires, Argentina.*

El objetivo es investigar la forma en que el uso planificado de la Comunicación Social puede facilitar y mejorar la participación de la población en el control de la transmisión de la enfermedad de Chagas. La *comunicación para la promoción de la salud* ha evolucionado y ha dejado de ser sólo el uso de medios masivos de comunicación social o la difusión de información relevante. Nos proponemos la adopción por parte de la población de dos conjuntos de comportamientos para una eficaz vigilancia vectorial: 1. *El uso correcto del biosensor detector de vinchucas*, y 2. *El "orden" de la vivienda*. Cada uno de estos conjuntos de comportamientos involucra varias conductas, habilidades, conocimientos y creencias, así como factores que facilitan o inhiben su aceptación, e implican un movimiento de información en ambas direcciones. En este contexto se trabaja en *Catamarca, Santiago del Estero y San Luis*. De los relevamientos efectuados sobre la comunidad y sus representantes locales, se obtuvo un diagnóstico inicial de situación: 1. Respecto del "orden" (remoción periódica de enseres) la observación realizada arrojó un 63% de viviendas ordenadas, 2. El 60% de los encuestados asocia Chagas con la "picadura" de la vinchuca, y el 99% manifiesta que para que no haya Chagas hay que eliminarlas, 3. Las acciones que realizan los pobladores para la eliminación de las vinchucas están relacionadas con la desinfestación de la vivienda. Se observa una asociación importante entre control y rociado (insecticida). En consonancia con este fenómeno, no se verifica en los encuestados una idea clara e internalizada de la prevención de la enfermedad, 4. El 77% de las viviendas tienen biosensores colocados y el 46% de los encuestados afirma que sirven para detectar la presencia de vinchucas, 5. Al abordar la relación existente entre población y medios de comunicación - muy importante para la determinación del impacto del medio en la población- la radio es el medio de

uso masivo (93%), durante el mayor tiempo diario, y en forma específica lo es la radio de frecuencia modulada local. En la actualidad se diseñan mensajes, se los prueba en las distintas áreas y se los "trabaja" en talleres comunitarios a través de los representantes locales con la utilización de la radio. Apoyo del Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación de Endemoepidemias, MSAS de la Nación y UNDP/WORLD BANK/WHO/TDR.

**EC8. Características clínico-epidemiológicas del Paludismo en menores de 16 años.** M ZAIDENBERG.

*Servicio Nacional de Chagas Salta, Gral. Güemes 125. Primer piso, CP 4400, Salta. FAX 087-310684.*

Se describen las características clínico-epidemiológicas del paludismo en niños menores de 16 años en Argentina. Se tomaron los datos de notificación del Programa Nacional de Paludismo de los años 1994 y 1995. A la población afectada de Salta (n=434), se aplicó una muestra aleatoria simple (n=91) de un cuestionario que indagaba sobre las características clínicas de la enfermedad en estos grupos etáreos. Entre los años 1994 y 1995 se notificaron 1870 casos de paludismo en el país; de los cuales 614 (32.8%) correspondieron a menores de 16 años. Sexo (n= 614): 367 varones (59.8%) y 247 mujeres (40.2%). Nacionalidad: argentina 486 (79.4%), boliviana 126 (20.6%). Ocupación (n=54) estudiantes 25; peón rural 19; empleados: 6; ama de casa 4. Estacionalidad (n= 614): enero 156; febrero 79; marzo 76; abril 54; mayo 32; junio 17; julio 5; agosto 27; septiembre 20; octubre 19; noviembre 33, diciembre 96. Procedencia: Salta: Departamentos: San Martín 304 (50.5%); Orán 80 (13.2%); Iruya y Santa Victoria Oeste 24(4.1%); Anta 11(1.8%) Otros 15(2.5%). Jujuy: Departamentos: Santa Bárbara 48 (7.9%); Ledesma 21(3.5%); El Carmen 6(1.0%); San Pedro 5 ((0.8%). Clasificación epidemiológica: Autóctonos 127 (20.7%); Importados del exterior 440 (71.8%); Importados de provincias 9 (1.3%); Introducidos 33 (5.4%); Recidivas 2 (0.3%); Crípticos 2 (0.3%). Período promedio comprendido entre el comienzo de los síntomas y la consulta: 3-5 días. Tiempo promedio entre la aparición de los síntomas y el diagnóstico: 8 días. De 614, se interrogaron a 126 niños y sus familias (20.5%) sobre las características clínicas de la enfermedad: Fiebre 121 (95.2%); cefalea 85 (67.5%); vómitos 37 (29.4%); astenia 68 (54.0%); sudor 87 (69.0%); escalofríos 75 (59.5%). Internados 23 (18.3%). El paludismo en menores de 16 años alcanza la tercera parte del total de la población afectada y las provincias de Salta y Jujuy. En la época estival ocurre más del 75% de los casos. Son importados del exterior más de los 2/3 de los casos. La morbilidad es leve a moderada. No se registró mortalidad atribuible a paludismo. Deben evaluarse otros parámetros que evalúen integralmente al grupo familiar y social afectados.



**EC9. Brote de Leishmaniasis cutánea americana (LCA) en la provincia de Salta, 1993. Parte I. Aspectos epidemiológicos.** M ZAIDENBERG, D SALOMON.

*Servicio Nacional de Chagas Salta. Gral. Güemes 125. Primer piso. Salta. CP 4400. FAX 087-310684. Instituto Nacional de Chagas, Paseo Colón 568, 5to. piso.*

Se realizó una investigación descriptiva sobre los aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos y entomológicos de la LCA en un brote epidémico ocurrido en el año 1993 en los departamentos San Martín y Orán. Se tomaron datos de las notificaciones oficiales, se practicó un examen físico y una entrevista no estructurada a pacientes que concurrieron por demanda espontánea o visitas domiciliarias. Se diagnosticaron 102 pacientes, 72 hombres (70.6%). El rango de edad fue de 1 - 72 años; el promedio 33 años, Me= 33 y el Mo= 18. La clínica (n=102), fue Cutánea en 93 casos; Cutánea única=49; Cutánea múltiple= 44 y Cutáneo-mucosa en 9. Su localización fue diversa, con predominio de Miembros superiores y Miembros inferiores. Evolución, (n=102):  $\leq 30$  días= 34 casos, (33.3%); 31-60=26, (25.5%); 61-90=15, (14.7%); 91-180=10, (9.8%); 181 y más=17, (16.7%). En relación a 87 datos colectados sobre el lugar donde contrajeron la infección, en 85, (97.7%), fue el área periurbana o rural próxima donde vivían o trabajaban. Estacionalidad, (n=93): Enero=2; Febrero=5; Marzo=1; Abril=8; Mayo=5; Junio=9; Julio=31; Agosto=14; Setiembre=0; Octubre=2; Noviembre=6; Diciembre=5. Residencia, (n=100): Tartagal= 61; Orán= 15; Mosconi y Ballivián = 6; H. Irigoyen= 5; Colonia Santa Rosa=4; Embarcación=4; Pichanal=3; Aguaray=1; San Martín del Tabacal=1. Ocupación, (n = 43): Jornalero 9 (20.9%), hachero 13 (30.2%), agricultor 6 (14.0%), cortada de ladrillo 6 (14.0%), quema de carbón 2 (4.6%), ama de casa 6 (14.0%), menor 1 (2.3%). Los grupos más afectados fueron los jóvenes, de sexo masculino, del hábitat periurbano o rural. Aproximadamente el 60% de los casos presentó menos de 60 días de evolución. Las ocupaciones desarrolladas en el medio rural fueron prevalentes en la población estudiada. La ocurrencia máxima de casos se produjo en los meses de julio y agosto; probablemente hayan contraído la infección en los 2-3 meses precedentes al pico invernal.

**EC10. Brote de Leishmaniasis cutánea americana (LCA) en Salta, 1993. Parte II. Aspectos clínicos y diagnósticos.** M ZAIDENBERG, D SALOMON.

*Servicio Nacional de Chagas Salta. Gral. Güemes 125 Primer piso. CP 4400 Salta. FAX 087-310684. Instituto Nacional de Chagas. Paseo Colón 568. 5to. piso. BsAs.*

Se diagnosticaron 102 casos, de los que 72 fueron varones (70.6%). La distribución por grupos etáreos fue la siguiente: 1-15 años= 21, (20.6%); 16-30 años= 32, (31.4%); 31-45 años= 23, (22.5%); 46-60 años= 16, (15.7%) y más de 60 años= 10, (9.8%). La expresión

clínica fue: Cutánea 93 casos, de los que 49 (48.0%) presentaron lesiones cutáneas únicas. Su localización fue la siguiente: Diecisiete en Miembros superiores (MS); 19 en miembros inferiores (MI); 7 en tronco (T) y 6 en Cabeza y cuello (CC). Las lesiones en su mayoría (38, 77.5%) fueron úlceras típicas, de bordes elevados, fondo rojo granulomatoso; un número menor fueron saniosas o con costras; a mayor tiempo de evolución, se asociaron con impetiginización de las mismas. Cuarenta y cuatro pacientes (43.1%), presentaron lesiones cutáneas múltiples con un promedio de 2.5 úlceras por paciente; el número de lesiones pareció no asociarse con el tiempo transcurrido desde el presunto comienzo de la lesión. Su localización fue diversa comprometiendo sitios cercanos a la lesión primaria, en general MS y MI. Nueve pacientes (8.8%), presentaron lesiones muco-cutáneas localizadas en tabique nasal en 8 y úvula en 1. El probable tiempo de evolución de estas últimas fue superior a los 60 días. El diagnóstico se realizó clínicamente en los 102 casos. En 88 se realizó el frotis directo de las lesiones que fue positivo en todos; examen histo-patológico en 16 con resultado positivo en los casos realizados. La intradermo-reacción de Montenegro fue positiva en los 77 pacientes en que se realizó; los datos de 16 pacientes interrogados y obtenidos de los registros revelaron un promedio de 32 mm de reactividad dérmica. Llama la atención la expresión clínica de este brote por la proporción de lesiones múltiples desarrolladas en pocas semanas; lo mismo puede decirse acerca de la reactividad de la intradermo-reacción de Montenegro. Podría plantearse una relación con la virulencia de la leishmania prevalente, lo que debería confirmarse con otros estudios.

**EC11. Brote de Leishmaniasis cutánea americana (LCD) en Salta, 1993 - Parte III. Aspectos entomológicos.** D SALOMON, M ZAIDENBERG.

*Instituto Nacional de Chagas, Paseo Colón 568, 5to. Piso, Bs. As.; Servicio Nacional de Chagas Salta, Gral Güemes 125, Primer piso CP 4400 Salta. FAX 087-310684.*

En el marco del brote de LCA en la zona se realizaron capturas en Misión San Benito, Puesto Yapurá sobre el río Tartagal y en Ballivián. Obraje sobre el río Seco, próximo a Sauzalito. Las capturas se efectuaron con trampa Shannon modificada con cebo humano protegido y trampa de luz a 200 mts. de la primera. Las capturas se realizaron de 19-21 hs. Los insectos se conservaron en PBS y DMSFO 10% bajo nitrógeno líquido hasta su determinación, disección observación del tubo digestivo en microscopio de contraste de fase en busca de infecciones parasitarias. En las viviendas de los casos visitados se realizó la búsqueda diurna intra y peridomiliar de flebotomos. Resultó nula la captura con cebo humano y trampa de luz en 2 peridomicilios de viviendas a orillas del río Tartagal. Tampoco se encontraron flebotomos vivos en sitios de reposo ni flebotomos muertos en las viviendas de casos visitados. En el obraje de desmonte a 22 km. de Ballivián, de 19 a 21 hs., (22-19 grados C) se colectaron 488 flebotomos



mediante cebo humano protegido y 3 con trampa de luz. Todos los ejemplares colectados pertenecían al género *Lutzomyia* intermedia y ninguno presentó infección natural. La ausencia de insectos en las capturas periurbana no aporta datos fehacientes sobre ausencia o presencia de flebótomos dado que las bajas temperaturas nocturnas estaban próximas a los límites térmicos de actividad de esta especie. *Lutzomyia* intermedia ya ha sido incriminada en la literatura como la especie sospechosa de ser el vector primario de LCA, en el área abundante en zonas modificadas por el hombre, próxima a cursos de agua. La tasa nula de infección para esta especie es coherente con resultados previos en el área. El riesgo de transmisión de LCA en el monte primario-secundario sería considerablemente superior al que se presenta en el ámbito periurbano. Lo indica la captura de vectores (Río Seco) y la referencia de casos a trabajos en el monte o contiguos a desmontes recientes (Ballivián, km. 6). Son necesarios estudios entomológicos anuales que permitan evaluar la dinámica de la transmisión en la zona.

**EC12. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en triatomos: efectos de un programa de control en Santiago del Estero.** MC CECERE, DM CANALE<sup>1</sup>, MB CASTAÑERA, R CHUIT<sup>2</sup>, RE GÜRTLER.

Depto de Biología, FCEN-UBA, Ciudad Universitaria, (1428) Buenos Aires; <sup>1</sup> Servicio Nacional de Chagas (SNCh), 9 de Julio 356, (5000) Córdoba; <sup>2</sup> Dirección de Epidemiología, Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación, 9 de Julio 1925, (1332) Buenos Aires.

Evalúamos la infección por *Trypanosoma cruzi* de *Triatoma infestans*, *Triatoma guasayana* y *Triatoma sordida* en las comunidades rurales de Amamé y vecinas, Santiago del Estero, durante 5 años luego de un rociado masivo con deltametrina en 1992 y rociados selectivos posteriores. Se colectaron triatomos por medio de biosensores colocados en dormitorios; por personal experto del SNCh, usando un agente desalojante (hora-hombre) en dormitorios y en peridomicilios, y por los moradores en cualquier parte de su vivienda. Los triatomos capturados fueron identificados por especie, estadio, lugar y fecha de captura. La materia fecal de cada triatomo obtenida por expresión abdominal se diluyó en una gota de solución fisiológica y se analizó a 400 x a los 7-15 días de su captura. Durante 1993-1997, la prevalencia de *T. cruzi* fue 1% en los 1118 triatomos analizados: 4% (12/306) en *T. infestans*, 1% (2/232) en *T. guasayana* y 0,2% (1/580) en *T. sordida*. Sólo se detectó *T. cruzi* en 11 (3%) adultos y en 4 (1%) ninfas V. Los 12 *T. infestans* infectados provinieron de diferentes casas y se repartieron equitativamente entre el domicilio y peridomicilio. Los *T. guasayana* y *T. sordida* infectados fueron capturados en peridomicilios de distintas casas en 1995 y 1996, respectivamente. La prevalencia de *T. cruzi* en los triatomos silvestres fue marginal comparada con *T.*

*infestans*. Comparando antes y después del rociado de 1992, la prevalencia de infección en *T. infestans* disminuyó drásticamente del 49% al 8% (6/77) en domicilio pero sólo a la mitad (6% vs 3%, 6/229) en peridomicilio. La baja tasa de infección de *T. infestans* domiciliarios podría asociarse a la baja tasa de recolonización domiciliar del vector y a los escasos animales domésticos y niños infectados. Resta explicar por qué la prevalencia de *T. cruzi* en peridomicilio no fue afectada por el programa de control, tal como ocurrió en domicilio.

**EC13. Evaluación del rol de centinela de la transmisión de *Trypanosoma cruzi* de una población canina rural.** MB CASTAÑERA<sup>1</sup>, M LAURICELLA<sup>2</sup>, R CHUIT<sup>3</sup>, RE GÜRTLER<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Biología, FCEN-UBA, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Parasitología Mario Fatala Chabén. <sup>3</sup>Dirección de Epidemiología de la Nación.

El perro, principal reservorio domiciliario de *T. cruzi* en la región chaqueña argentina, jugaría un rol centinela bajo un programa de control vectorial si pudiera comprobarse cuál es la ruta de adquisición de *T. cruzi*. Las vías posibles son: vectorial; vertical (madre-hijo); por consumo de mamíferos infectados; horizontal (perro-perro). Se estudió la población canina de Amamé y localidades vecinas (Sgo. del Estero), las que se encuentran en vigilancia contra la reintroducción de *Triatoma infestans* desde Oct. 1992. La vigilancia entomológica se efectuó mediante biosensores, búsqueda de triatomos por hora-hombre y capturas por residentes. Los perros se censaron cada 6 meses durante 3 años, registrándose, por entrevistas a sus dueños: nombre, edad y localidad de origen del perro; edad de ingreso a la vivienda; identificación de la madre; hábitos y funciones (cazador; captura de mamíferos silvestres; hábitos vagabundos; lugar de reposo nocturno). Se relevó serológicamente a un 70% de los perros en Nov.1994 y Dic.1996. Un perro fue seropositivo si resultaba reactivo por 2 de 3 técnicas (ELISA, I.F.I. y H.A.I. (Polychaco S.A.)). La seroprevalencia global de *T. cruzi* fue del 65% en 1992, cayendo al 39% (70/182) en 1994 y al 15% (36/237) en 1996. Para perros de hasta 2 años, la seroprevalencia fue del 12% (10/87) en 1994 y del 4% (6/148) en 1996. De 16 variables consideradas para explicar la ocurrencia de perros seropositivos nacidos post-rociado, sólo resultaron significativas en un análisis bivariado (i) la localidad de origen, y el hábito vagabundo para el período 1993-94, y (ii) la captura de mamíferos silvestres, y cohabitar con 2 ó más perros infectados para 1995-96. Se halló una tendencia creciente con el n° de *T. infestans* capturados en domicilio, con el n° de *T. infestans* y de *T. guasayana* capturados en anexos peridomésticos, con la presencia de algún triatomo infectado por *T. cruzi*, y con el status de infección de la madre. Estos resultados sugieren que no habría una única vía de transmisión que explique la aparición de nuevos perros infectados luego del inicio de la vigilancia.



#### EC14. Diagnóstico de la enfermedad de Chagas congénita en Salta, Años 1980-1996. M ZAIENBERG.

Servicio Nacional de Chagas Salta, Gral. Güemes 125, Primer piso, Salta. FAX : 087-310684.

Objetivos: Describir las técnicas así como la oportunidad diagnóstica en los 79 recién nacidos (RN) diagnosticados en el período 1980-1996. En el Servicio de Neonatología del hospital Materno-infantil de Salta (1980-1996), un programa de control de Chagas perinatal con efectores de APS, (1986-1987), y un servicio de consulta externa, se diagnosticaron 79 casos de Chagas congénita. El diagnóstico en los primeros 6 meses se realizó mediante la prueba del micro-hematócrito y a partir del 7mo. mes a través de la determinación y reactividad de dos pruebas serológicas: Hemaglutinación indirecta e Inmunofluorescencia indirecta o ELISA. De acuerdo al momento del diagnóstico se dividieron a los RN y lactantes en 2 grupos: Grupo 1: (n = 55), diagnosticados en el primer mes; Grupo 2 (n = 24), diagnosticados entre el segundo y los 21 meses. Este grupo se subdividió en 2a: detectados entre los 2-6 meses (7 a los 2 meses, 4 a los 4 meses y 2 en el sexto mes y 2b (n = 11) cuyo diagnóstico se realizó entre los 12 y 21 meses en la consulta externa (cinco a los 12 meses, 3 a los 14, 2 a los 18 y 1 a los 21 meses). En un medio como la provincia de Salta, con una historia de moderada endemidad y en fase de vigilancia, la detección de la serología en embarazadas y el seguimiento de sus RN debe implementarse en forma sistemática, lo que permitiría la detección del mayor número de casos de Chagas congénita.

#### EC15. Epidemiología molecular de moluscos del género *Biomphalaria*, hospederos intermediarios de *Schistosoma mansoni*. L SPATZ, TD VIDIGAL\*, O SANTOS CARVALHO\*, SM GONZALEZ CAPPA.

Dpto. de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, 1121 Buenos Aires. \* Centro de Pesquisas Rene Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, Brasil.

*Biomphalaria glabrata*, *B. tenagophila* y *B. straminea* son los principales hospederos intermediarios de *Schistosoma mansoni* en sudamérica. Los dos últimos, presentes en Argentina, son responsables de diversos focos localizados en los estados de Santa Catarina y Paraná, Brasil, vecinos al litoral de nuestro país. En Argentina no se han registrado aún casos autóctonos de esquistosomiasis pero su expansión en el sur de Brasil y las condiciones ambientales del noreste argentino aumentan la probabilidad de que el parásito se establezca. Los moluscos del género *Biomphalaria* presentan una gran variabilidad morfológica intraespecífica que dificulta su correcta determinación, esencial para la prevención y vigilancia epidemiológica de esta parasitosis. Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando dos primers específicos que amplifican la región ITS ribosomal, y posteriormente cortando los productos

de amplificación con enzimas de restricción (Hae III, MnlI, AluI) se logró la determinación de especies morfológicamente semejantes. Se estudiaron 4 ejemplares de al menos 3 poblaciones distintas para las siguientes especies: *B. straminea*, *B. t. tenagophila*, *B. t. guaybensis*, *B. occidentalis*, tanto del noreste argentino como de distintas regiones de Brasil. Se obtuvieron bandas de distinto peso molecular diagnósticas para cada especie. Ejemplares citados previamente como *B. t. guaybensis* (refractaria a *S. mansoni*) para nuestro país fueron determinados por este método como *B. t. tenagophila* (susceptible). También se pudo determinar como variante morfológica de *B. straminea* a una población caracterizada por los métodos clásicos (morfológicos) como una posible nueva especie (*B. straminea* like). Se está estudiando, como complemento de los resultados sistemáticos, el grado de susceptibilidad al parásito de poblaciones de *B. straminea* y *B. t. tenagophila* de Argentina. Este proyecto es financiado con fondos otorgados por el CONICET y la Fundación Roemmers.

#### EC16. Diagnóstico epidemiológico, al inicio de la estrategia de participación comunitaria (pc) para el control de Chagas. Dpto. Pellegrini, Sgo., del Estero, Argentina, 1994. S BLANCO<sup>1</sup>, J ZARATE<sup>2</sup>, J MEDINA<sup>2</sup>, Y FLORES<sup>2</sup>, C SPILLMAN<sup>1</sup>, S SOSA ESTANI<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>SN Chagas Córdoba, <sup>2</sup>Servicio Nacional de Chagas Tucumán, <sup>3</sup>CEDIE/ANLIS "CG Malbrán".

En Argentina, desde 1993 es incorporada la estrategia de PC, para las actividades de control de la transmisión del T cruzi, en el marco del Programa de Control de Chagas. En 1994 se implementa en Pellegrini, y como parte de la estrategia se efectúa al inicio de la vigilancia un estudio de tamizaje serológico en niños de 6 meses a 14 años de edad, con el objeto de 1. Detectar niños infectados y tratar su infección, 2. Conocer la prevalencia de infección al inicio del control. Evaluamos la situación basal de un área donde se inició la estrategia de control con PC. Después del rociado de ataque se obtuvieron muestras de sangre capilar de pulpejo del dedo de 3196 niños de 39 comunidades, de las cuales 23 no habían sido tratadas con insecticidas en los últimos 10 años. Las muestras fueron tomadas por personal del Programa Nacional y Agentes Sanitarios. Se analizaron por las técnicas de HAI y ELISA. La prevalencia global fue de 16.4 %, siendo más alta en las áreas no tratadas (ANT) 20,11 %, que en las tratadas (AT) 10.1% (p < 0.0001). Esta diferencia se observó en todos los grupos de edad, 0 a 4 (ANT 13,1%, AT 5.6%), 5 a 9 (ANT 24.0%, AT 11.5%), y 10 a 14 (ANT 24.0%, AT 13.4%), años. Todos los niños con infección confirmada a través de suero obtenido por venopunción fueron puestos bajo atención médica y tratados con benznidazol. Concluimos que: 1- La serología como metodología de vigilancia, sirve para el diagnóstico inicial de nuevos casos y detección temprana de infectados en fase indeterminada, para su control y tratamiento. 2- El estudio serológico es utilizado como un indica-



dor para devaluar las acciones de control y vigilancia, y que el tratamiento y vigilancia de las viviendas en forma sostenida disminuye el riesgo de adquirir la infección. 3- La metodología usada para la toma de muestras permite estudiar un elevado número de habitantes en áreas rurales dispersas.

**EC17 Técnica de frotis Vigo: una nueva alternativa para el diagnóstico de Leishmaniosis. B VIGO, R SALAS CARRIÓN.**

*Servicio de Anatomía Patológica Hospital Regional Cusco Perú. M.E. Sanz Castro; Estudiante de Medicina UNT. Pje Ambrosio Nougues 1511 Dto 6 (4000) SM de Tucumán.*

Con el objeto de mejorar la Técnica de Frotis Convencional para el Diagnóstico de Leishmaniosis se modificó el uso del Metanol en la fijación previa; dejando secar el extendido a temperatura ambiente 30 minutos y aplicándose luego una Solución de Trabajo (Giemsa Solución Concentrada más Metanol). Lográndose una clara observación del parásito. Estas modificaciones fueron realizadas por el Dr Vigo en el Hospital Regional del Cusco. Se realizó un Estudio Multicéntrico de Cohortes a 444 pacientes con Leishmaniosis; de los cuales 182 eran del Hospital Regional del Cusco (Perú), 122 de los Hospitales de Tucumán y Jujuy (Argentina) y 140 del Hospital Lorena del Cusco (Perú). En quienes se realizó un estudio comparativo a Doble Ciego de las diferentes Técnicas de frotis que se aplicaban en cada Hospital. El sexo, edad, número de lesiones, tiempo de evolución y forma de tratamiento en relación al tipo de frotis fue significativo en todos los casos ( $p < 0,01$ ). Además, la Técnica modificada de Vigo obtuvo una positividad de 86,82 % en comparación a la Técnica del Ministerio de Salud del Perú (Htal Lorena) con el 53,57 % y el 42,8 % en Los Hospitales de Tucumán y Jujuy. Además se encontró una sensibilidad de 86,82 % una especificidad del 100%, una proporción de positivos a la prueba de 84,49 % y una prevalencia de 97,32 %. En conclusión, estas modificaciones en la técnica de frotis aseguran una visualización rápida, clara y precisa del parásito, con una sensibilidad similar a la intradermoreacción de Montenegro y a un costo significativamente menor.

**EC18. Evaluación clínico - sanitaria de perros mestizos de un área endémica para enfermedad de Chagas. AM LAURICELLA<sup>1</sup>, MB CASTAÑERA<sup>2</sup>, MA LAURICELLA<sup>3</sup>, RE GÜRTLER<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup> Dpto. Química Biológica, <sup>2</sup> Dpto Biología, FCEyN (UBA). <sup>3</sup> Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatała Chabén.

Con el objeto de reexaminar el estado sanitario-nutricional de perros mestizos habitantes de un área endémica para la enfermedad de Chagas (Congreso SAP 1990, EP 27) y correlacionarlo con seropositividad por *T. cruzi*, se realizó una evaluación clínico- veterinaria y se tomaron muestras de sangre de perros habitantes de caseríos de Amamé y localidades vecinas (Sgo. del

Estero). Se estimó altura, peso, longitud, grosor del pliegue cutáneo, estado del pelo, piel, mucosas y tamaño de los ganglios. Se realizaron frotis, microhematocrito y estudios serológicos de detección de anticuerpos específicos mediante las reacciones de inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta (Polychaco SA) y ELISA, resultando 36 perros seropositivos de una población de 237 animales examinados. Se sorteó una muestra de 45 seronegativos de acuerdo a la distribución etaria de los positivos. Se determinó la concentración sérica de proteínas totales (PT) y se efectuaron proteinogramas electroforéticos sobre acetato de celulosa gelificado ( $n=81$ ). El 46% de los animales presentaron anemia, la que fue evidenciada por grado variable de hipocromía, anisocitosis, valores disminuidos del hematocrito y presencia de dianocitos. El 11% de los animales estudiados mostró concentración de albúmina disminuida respecto al mínimo valor normal de su grupo etario. Por otra parte, el 58 % de los perros evidenciaron una eosinofilia marcada atribuible a infecciones parasitarias, y el 27% mostró linfocitosis relativa. Cuando se compararon animales serológicamente positivos y negativos agrupados según su edad, no se encontraron diferencias significativas entre los valores de hematocrito, PT, concentración sérica de albúmina y valores relativos de linfocitos y eosinófilos, ni de los parámetros clínicos. Estos resultados sugerirían un grado de desnutrición importante de la población estudiada que no está asociada con la reactividad por *T. cruzi*.

**EC19. Prevención y tratamiento de la toxoplasmosis connatal en los servicios asistenciales públicos en Tucumán. CI SULAIMAN<sup>1</sup>, ME ROMERO<sup>1</sup>, NI GUTIERREZ<sup>1</sup>, HS SANCHEZ<sup>1</sup>, JAM BIANCHI<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup> Cátedra de Parasitología y Terapéutica Antiparasitaria, <sup>2</sup> Cátedra de Metodología de Investigación Facultad de Medicina Universidad Nacional de Tucumán. Bolívar 913 (4000) Tucumán.

La toxoplasmosis materna adquirida durante el embarazo, produce en el niño la forma connatal y el tratamiento de estos casos reduce considerablemente el riesgo de la infección al feto, las gestantes con serología negativas son las susceptibles, por lo que pueden contraer la infección y causar toxoplasmosis aguda. Se observaron casos de toxoplasmosis connatal (T.C) con secuelas irreversibles no obstante suponer que existían normas preventivas. Objetivos: Verificar si se diagnostican precozmente toxoplasmosis en embarazadas y en neonatos y si realizaban tratamientos adecuados. Indagar cual era la actitud de los médicos de los servicios asistenciales públicos de Tucumán (SAPT) sobre este tema. Averiguar si las gestantes tenían información sobre la enfermedad. Se efectuó un estudio exploratorio descriptivo observacional de corte transversal en SAPT, con una muestra de 121 personas de marzo a junio en 1996, en San Miguel de Tucumán. Se entrevistaron a profesionales y se encuestaron a embarazadas y madres de neonatos. De los médicos, el 55% no solicita-



ba exámenes serológicos, el 72% no indicaba la terapéutica correcta, el 100% no aplicaba medidas preventivas. De las embarazadas y madres, el 90% carecía de información sobre la enfermedad y sus medidas profilácticas. Se concluye: que la detección precoz en embarazadas y en los neonatos es mínima, la terapéutica aplicada fue incorrecta y que la casi totalidad de las embarazadas no tenía información sobre toxoplasmosis.

**EC20. Enfermedad de Chagas: Experiencia de Enseñanza-Aprendizaje en el Pregrado Universitario.** A SOUTULLO<sup>(1)</sup>; M STREIGER<sup>(2)</sup>; H SOSA<sup>(1)</sup>; H MIGLIETTA<sup>(2)</sup>; E GIRALDEZ<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup>Cátedra de Parasitología y Micología. <sup>(2)</sup>Centro Investigaciones Endemias Nacionales-CIEN-Fac.de Bioqca. y Cs. Biol. UNL Paraje El Pozo 3000 Santa Fe

La importancia sanitaria de la endemia chagásica en Latinoamérica (Mercosur incluido) requiere que los egresados universitarios (especialmente médicos y bioquímicos) estén capacitados sobre esta patología. En nuestra región hemos constatado cierta dificultad en el criterio (e interés) para dar adecuada respuesta a casos concretos de diagnóstico y tratamiento, probablemente por falta de información y/o actualización en el pre-grado. Consideramos oportuno comunicar la experiencia que sobre esta endemia desarrollamos en la Facultad. Metodología: Durante el cursado de la materia Parasitología y Micología se conforman grupos de 10 alumnos aproximadamente, para desarrollar en 3 jornadas -de 4 a 6 hs c/u-, "talleres teórico-prácticos". Los docentes-investigadores del C.I.E.N. tienen a su cargo el desarrollo de los talleres. Partiendo del concepto que el conocimiento requiere de prácticas concretas en la relación teoría-práctica y que el proceso enseñanza-aprendizaje se enriquece con el intercambio de múltiples experiencias, se brinda a los alumnos la posibilidad de trabajar con el agente infeccioso, el insecto vector y muestras sanguíneas. Las temáticas tratadas comprenden: -Entomología, -Bioquímica y cultivo del T. cruzi, -Diagnóstico serológico y parasitológico, -Epidemiología y clínica. Si durante la pasantía concurre algún paciente, se pide autorización a éste para que los alumnos presencien la anamnesis. Es valiosa la riqueza que ofrece esta experiencia para el conocimiento de la realidad de los infectados. El alumno pasa de ser «oyente pasivo» a «activo», con formación de criterios para su desempeño posterior y permite que los alumnos: -Globalicen el tema en base a conocimientos entomológicos, serológicos, clínicos y epidemiológicos adquiridos en la pasantía. -Tengan el concepto que esta endemia excede el ámbito del laboratorio y muestra una realidad socioeconómica que debe tenerse en cuenta. -Visualicen que los temas, aún teniendo su propia especificidad, deben encararse con un abordaje multidisciplinario. -Conozcan una metodología de investigación.

**EC21. Chagas transfusional en la Provincia de Santa Fe-año 1996.** CG MAIDANA, GD ACHKAR.

*Dirección de Bioquímica y Farmacia, Blas Parera 8260 - 3000 Santa Fe.*

En la Pcia de Santa Fe existen áreas de diferente endemicidad para la enfermedad de Chagas (entendiéndose como Área Endémica aquella donde la transmisión vectorial es posible). Los que mayores índices presentan son los Deptos de 9 de Julio y Vera, le siguen los de mediana endemicidad, San Cristóbal y General Obligado; San Javier y las zonas Norte de San Justo y Garay de baja endemicidad. El resto de la provincia se considera libre de transmisión vectorial. En busca de mejores condiciones de vida se ha producido un desplazamiento de la población infectada ("urbanización de la enfermedad de Chagas") tomando importancia entonces, el mecanismo de transmisión transfusional, lo cual se manifiesta en las prevalencias obtenidas en los controles de sangre a transfundir. A los fines de eliminar la transmisión por esta vía es que se realizan controles serológicos obligatorios. El número total de donantes en el año 1996 fue de 18.700, de los cuales 932 resultaron reactivos para infección chagásica, arrojando una prevalencia del 4,98% para toda la Provincia

PREVALENCIA DE INFECCION CHAGASICA EN DADORES DE SANGRE  
PROVINCIA DE SANTA FE - AÑO 1996-

DEPARTAMENTO	PREVALENCIA (%)	DEPARTAMENTO	PREVALENCIA (%)
9 DE JULIO	14,81	CASTELLANOS	7,56
VERA	4,85	LAS COLONIAS	1,04
G. OBLIGADO	6,47	LA CAPITAL	5,05
S. CRISTOBAL	11,53	S. MARTIN	0,48
S. JUSTO	8,33	S. JERONIMO	0
S. JAVIER	6,15	BELGRANO	15
GARAY	3,33	IRIONDO	1,17
G. LOPEZ	2,05	CASEROS	4,07
CONSTITUCION	3,87	ROSARIO	5,27

La Provincia de Santa Fe, ha organizado una Red de Laboratorios, con un centro de referencia provincial que es el Laboratorio de Chagas, perteneciente al Laboratorio Central, sito en la ciudad de Santa Fe. La misma está incluida en la Red de Laboratorios Nacionales y el marco de referencia es el Instituto Nacional "Dr. Mario Fatale Chaben" Las actividades básicas de nuestro Laboratorio son la capacitación, entrega de suministros, supervisión e implementación de control de calidad interno y externo entre los profesionales de la Red de Laboratorios.



**EC22. Chagas congénito a partir de madres con Chagas transfusional.** ALTCHÉH J, HUALDE G, FREILIJ H.

*Parasitología, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Gallo 1330 (1425), Buenos Aires. Fax: 962-5143*

**Introducción:** El control de la vía vectorial de infección y la migración interna ha hecho que adquieran importancia la vía transfusional y congénita de infección en especial en los grandes centros urbanos. **Objetivo:** alertar sobre la ocurrencia de infección transfusional asintomática detectada a partir del nacimiento de niños con Chagas congénito. **Criterios diagnósticos:** *Chagas Transfusional:* Serología reactiva por 2 técnicas (HAI, ELISA), no provenir de zona endémica, antecedente de transfusión; *Chagas congénito:* madre con serología reactiva y a) en niños < de 6 meses: detección de *T. cruzi* por microhematocrito, b) en > de 6 meses: serología reactiva, no provenir de zona endémica y no haber recibido transfusiones.

**Resultados:**

	Madre		Edad	MH	Niño	
	Serología	Clínica			Serología	Clínica
Caso 1	+	Asintom.	1m	+	+	Sepsis
Caso 2	+	Asintom.	15 m	neg	+	Asintom.
Caso 3	+	Asintom.	2 a	NR	+	Asintom.
Caso 4	+	Asintom.	3a	NR	+	Asintom.

MH: Parasitemia por microhematocrito, NR: no realizado

**Conclusión:** Destacamos la importancia del screening serológico en toda madre con antecedentes de transfusiones dado que la infección cursa en forma asintomática.

**EC23. Diagnóstico de paludismo en el Hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz años 1993 a 1996.** ABUIN J.C., BELLEGARDE E.

*Sección Parasitología y Toxoplasmosis - Hospital F.J. Muñiz. Uspallata 2272(1282) Buenos Aires. Argentina.*

**OBJETIVO:** Establecer el número de parasitados sobre el total de pacientes que concurrieron con diagnóstico presuntivo de paludismo durante el período 1993-1996 y discriminar los casos por especie. **MATERIAL Y METODO:** Se evaluaron 254 pacientes durante el período 1993-1996 mediante la técnica de gota gruesa y extendido hemático, coloreándose con solución de Giemsa. Las tomas se repitieron durante un período de 6 días antes de dar por negativo a un paciente. **RESULTADOS:** Se obtuvieron los siguientes resultados: 52 pacientes (20,5%) fueron positivos, 49 pacientes correspondieron a *P. vivax* y 3 a *P. falciparum*. No se hallaron casos mixtos. **CONCLUSIONES:** Un observador bien entrenado y el seguimiento del paciente sospechoso por un tiempo prudencial aseguran la calidad del diagnóstico. La anamnesis epidemiológica bien dirigida

es fundamental para la presunción. Los pacientes enviados a nuestro centro provienen no solo de zonas endémicas fronterizas y de países limítrofes sino también de otros continentes como Asia y África.

**EC24. Infección chagásica en menores de 14 años de edad.** M. SEGOVIA, S. SOTO, Z. LEMA, M. LOPEZ.

*Ministerio de Salud Pública. C. Cívico Grand Bourg. CP 4400-Salta- Argentina*

**Objetivo:** determinar infección chagásica en niños menores de 14 años de edad en la provincia de Salta. **Material y Métodos:** efectores de Atención Primaria de la Salud extrajeron muestras de sangre por punción capilar en 11.198 niños menores de 14 años de edad de las diferentes Zonas Sanitarias de la provincia de Salta. Se investigó infección chagásica mediante el par serológico HAI- ELISA.

**Resultados:**

Zona Sanitaria	% Infección chagásica
Norte	5,23
Sud	2,12
Oeste	2,55

**Conclusiones:** los niños menores de 14 años de edad, de la Zona Sanitaria Norte muestran el mayor índice de infección chagásica de la Provincia.

**EC25. Detección de parásitos de importancia clínica en aguas de bebida.** MC LURA\*, B. ABRAMO-VICH\*\*, B. BOT\*, MI. GILLI\*\*, MA. HAYES\*\*, E. CARRERA\*\*\*.

\*Cát. de Microbiología General; \*\*Sección Aguas y \*\*\*Dpto. de Matemáticas. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. U.N. Litoral.

La creciente importancia de los protozoos como agentes etiológicos de cuadros de desnutrición, ha estimulado una investigación activa en todas las áreas. La contaminación de las aguas ambientales constituye uno de los mayores problemas. Con respecto a los enteroparásitos, numerosos autores han descripto la presencia de *Cryptosporidium* spp, *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica* en brotes de diarrea de origen hídrico al ser vehiculizados por el agua. El común denominador en la mayoría de los casos descriptos fue el empleo de agua de superficie tratada con un sistema de purificación inadecuado o defectuoso y no sometida a floculación, sedimentación y filtración. El objetivo de nuestro trabajo fue investigar la presencia de protozoos de importancia clínica en aguas de consumo de origen subterráneo almacenadas en tanques de distribución y que reciben cloración como único tratamiento de potabilización. Se seleccionaron diferentes barrios de la Provincia de Santa Fe. En cada uno de ellos se filtraron 4000 litros de agua a través de filtros de hilo de polipropileno tejido con poros de 1 µm. Los mismos fueron desmenuzados y cada una de sus porciones lavadas minuciosamente con una solución de Tween 80 al 0,2 %, habiéndose procedido al centrifugado de todo el líquido de lavado utilizado. La búsqueda de los parási-



tos se realizó, en los sedimentos obtenidos, mediante microscopía óptica e inmunofluorescencia directa. En el agua de tres de los grupos de población estudiados, se detectaron, respectivamente, ooquistes de *Cryptosporidium* spp, quistes de *G. lamblia* y quistes de *E. histolytica*. Se destaca la importancia de investigar en forma rutinaria en el agua de bebida, la presencia de parásitos de importancia clínica cuyos quistes son resistentes a las concentraciones de cloro utilizadas habitualmente para potabilizar el agua.

#### EC26. Hallazgos parasitológicos en coprocultivos de Rutina. S BONTTI.

Laboratorio Hospital «Dr. Domingo Sicoli», Belgrano 412, (5533) Villa Tulumaya, Departamento de Lavalle, Provincia de Mendoza.

El objeto de este trabajo fue evaluar con que frecuencia se encuentran parásitos en pacientes con trastornos gastrointestinales a los que se les solicita un coprocultivo para búsqueda de enteropatógenos o un examen en fresco de materia fecal para visualizar leucocitos polimorfonucleares. Se analizaron 563 coprocultivos y exámenes en fresco remitidos al laboratorio del Hospital «Dr. Domingo Sicoli» entre setiembre de 1994 y junio de 1996. A todas las muestras se les hicieron tres montajes húmedos entre porta y cubreobjetos y se observaron sin coloración, con solución de Lugol y con Azul de Metileno (100X y 400X). Los cultivos se hicieron en medios selectivos diferenciales para los enteropatógenos mas comunes. No se realizó búsqueda de *Campylobacter* sp., *Yersinia* sp., *Cryptosporidium* sp. ni de Enterovirus. En 82 oportunidades se hallaron parásitos, lo que representa un 14.6 % del total de muestras observadas. De estas muestras, 11 presentaban un enteropatógeno por lo menos: *Salmonella* sp. (3), *Shigella* sp. (7) y EPEC (1). Los parásitos hallados fueron: *Giardia lamblia* (55.4 %), *Blastocystis hominis* (23.4%), *Entamoeba coli* (18.5 %), *Chilomastix mesnili* (12.3 %), *Endolimax nana* (11.1 %), *Trichomonas hominis* (3.7 %), *Hymenolepis nana* (1.23%) y *Iodamoeba buschii* (1.23 %). Se hace notar la importancia del diagnóstico de las infecciones parasitarias intestinales y la inclusión de los agentes parasitarios como causa de trastornos gastrointestinales especialmente en la niñez.

#### Inmunomodulación: IM

##### IM1. Influencia del sexo en la evolución de la lesión en ratones BALB/c infectados con *Leishmania mexicana*. F AGUILAR-TORRENTERA<sup>1,2</sup>, Y CARLIER<sup>1</sup>.

Lab de Parasitología, Universidad de Bruselas, Bélgica<sup>1</sup>, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México (Becario de COFAA)<sup>2</sup>.

Las leishmaniosis comprenden un gran espectro de síndromes clínicos, basado en múltiples factores tanto del parásito, como del huésped e inclusive del vector.

Tales como la especie, cepa, dosis y sitio de inoculación del parásito y del huésped el fondo genético y la respuesta inmunitaria que éste desarrolle para controlar la parasitosis. Además, desde hace tiempo se ha observado que la edad y el sexo pueden modificar el curso de la infección. Sin embargo, ha sido poco estudiada la influencia de éstos factores en la evolución de esta enfermedad. De manera general ha sido aceptado que, en muchas enfermedades parasitarias, los machos son mas susceptibles que las hembras. No obstante, que en algunas infecciones bacterianas y virales en roedores, las hembras presentan una respuesta inmunitaria celular menor y los niveles de inmunoglobulinas elevado con respecto a los machos. En este trabajo analizamos la influencia del sexo en la evolución de la lesión en ratones susceptibles a *Leishmania*. Para este fin, fueron inoculados intra-plantarmente 30 ratones de la cepa BALB/c (15 hembras y 15 machos), con 10<sup>7</sup> promastigotes de *L. mexicana* y semanalmente durante 20 semanas se midió el tamaño de la lesión. Los resultados mostraron que las hembras son mas susceptibles a la infección, debido a que a partir de la segunda semana después de la inoculación con el parásito mostraron un mayor tamaño de la lesión y a las 16 semanas el 56% mostraban lesiones metastásicas a diferencia de los machos que aún no presentaban esta difusión de la enfermedad. El número de parásitos presentes en la lesión fue contado en algunos animales y las hembras también mostraron un número mayor, estadísticamente significativo con respecto a los machos. Así este estudio enfatiza la influencia del sexo en el modelo BALB/c - *L. mexicana* y ser considerado en los mecanismos regulatorios de la respuesta inmunitaria y en su intrincada red de interacciones moleculares que pueden modular una respuesta.

##### IM2. El fenómeno de supresión que ocurre durante la infección experimental con *Trypanosoma cruzi* es posterior a una etapa de activación. E ZUÑIGA, C MOTRAN, C MONTES, F LOPEZ DIAZ, J L BOCCO, E VOTTERO-CIMA, A GRUPPI.

Dpto Bioq Clínica. Fac Cs Químicas. UNC. Ag Postal 4 CC 61 5000 Córdoba.

La fase aguda de la infección experimental con *T. cruzi* está caracterizada por dos fenómenos inmunológicos aparentemente contrapuestos: la activación policlonal y la inmunosupresión. El objetivo del presente trabajo fue analizar una posible relación entre estos fenómenos que permita explicar su coexistencia en la misma etapa de la infección. Para ello en células mononucleares de bazo (CMB) de ratones BALB/c infectados con dosis de 500 a 100000 tripomastigotes (tp) sanguíneos (Tulahuén) por animal, obtenidas en el día 8 y 11 post infección (pi) se analizaron: a) Morfología al microscopio óptico, b) Proliferación espontánea, c) cinética de la respuesta linfoproliferativa a ConA o LPS, d) secreción de IgM a los sobrenadantes de cultivo y e) fragmentación de DNA como índice de apoptosis celular. Como controles se utilizaron CMB de ratones nor-



males o inyectados con adyuvante de Freund completo. Pudimos observar que los animales infectados con mayor número de tp tanto en el día 8 y 11 pi tienen una respuesta linfoproliferativa basal y frente a mitógenos muy disminuida desde las 24 hs de cultivo, que se correlaciona con la presencia de células agregadas con característica de inmadurez y presencia de fragmentación de DNA. En cambio en el día 8 pi la proliferación basal de CMB de animales infectados con bajas dosis de tp está aumentada respecto de los controles o de animales infectados con mayor número de tp y presentan una respuesta a los mitógenos normal pero con una cinética acelerada. Esto llevo a detectar supresión en los tiempos habitualmente estipulados para medir proliferación frente a estos mitógenos. Los niveles de IgM en los sobrenadantes de cultivo se correlacionan con la respuesta linfoproliferativa. Estos resultados sugieren que bajas parasitemias inducen cierto grado de activación en los linfocitos que le permiten proliferar espontáneamente y responder antes frente a un mitógeno, mientras que en los animales con mayor número de parásitos las células se sobreactivan in vivo perdiendo la capacidad de proliferar probablemente debido a una muerte celular programada inducida por activación.

**IM3. La inmunización con *T. rangeli* modula el perfil de citoquinas en la infección experimental por *T. cruzi*.** L CERVETTA, E MORETTI, B BASSO.

*Universidad Nac. de Cba, Servicio Nac. de Chagas y CONICOR. Rondeau 41 (5000) Córdoba.*

En nuestro laboratorio se desarrolló un modelo experimental murino en el cual, inmunizando con *T. rangeli*, se obtiene respuesta inmune protectora frente a la infección por *T. cruzi* asociada, fundamentalmente, a la producción de isotipos IgG1 e IgG2a. En el presente trabajo se estudiaron los niveles séricos de citoquinas derivadas de linfocitos TH1 y TH2 en un grupo de ratones BALB/c infectados con *T. cruzi* y en otro inmunizado con *T. rangeli* previo a la infección. Específicamente se dosaron, mediante enzoinmunoanálisis, los niveles de Interferón gamma (IFN), Interleuquina 2 (IL2), Factor de necrosis tumoral alfa (TNF), IL4, IL6 e IL10 durante el periodo agudo de la infección. Los resultados mostraron un incremento significativo de IFN, TNF, IL-6 e IL10 en los ratones infectados entre los días 9 y 21 post infección, respecto a los controles no infectados ( $p < 0,05$  a  $< 0,001$ ). En los ratones inmunizados se observó lo siguiente: IFN e IL6 mostraron niveles intermedios entre los controles y los infectados ( $p < 0,05$  a  $< 0,01$ ) aunque IFN presentó concentraciones elevadas en relación a la carga parasitaria; TNF e IL10 se mantuvieron en concentraciones séricas similares a los controles y, por último, IL2 e IL4 no mostraron cambios respecto a los controles en ambos grupos experimentales. Se observó una estrecha correlación entre la elevación de los niveles de citoquinas y el aumento de la parasitemia. En conclusión, la inmunización con *T. rangeli* parece inducir un balance de citoquinas favo-

rable al huésped, reduciendo los niveles de citoquinas proinflamatorias, como TNF, así como de IL10, asociada a susceptibilidad a la infección. En cambio, mantiene niveles aparentemente protectores de IFN. Este balance se correlaciona con un elevado clearance de parásitos y una mejor resolución de la infección. En estos estudios se observó que el perfil sérico de citoquinas correspondió a ambos fenotipos celulares TH1 y TH2 sin predominio de uno u otro, como ocurre en otras parasitosis.

**IM4. Isotipos de anticuerpos anti-sulfocerebrosidos en ratas infectadas con *T. cruzi*. Efecto de la infección materna durante la preñez.** S FELDMAN, H DAVILA, G DIDOLI, A MARCIPAR, S REVELLI, O BOTTASSO.

*\*Cátedra de Química Biológica e Instituto de Inmunología de la Fac. Cs. Médicas, UNR, Rosario; INTEBIO, UNL, Santa Fe.*

En trabajos previos demostramos que la prevalencia de miocarditis crónica en ratas infectadas con *T. cruzi* era menor cuando las crías provenían de madres infectadas durante la preñez. También se comprobó que la infección con *T. cruzi* coexiste con altos niveles de auto-anticuerpos IgG anti-sulfocerebrosidos (a-sulf), siendo de menor jerarquía en las ratas nacidas de madres infectadas. Con el objeto de investigar si las diferencias en los niveles de a-sulf responden a algún isotipo en particular, se midieron los niveles de IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG2c a-sulf en 4 grupos de crías ( $n=5$  cada uno); inoculadas con *T. cruzi* que provenían de madres con (il) o sin (iCo) infección homóloga durante la preñez; crías nacidas de los mismos grupos de madres no infectadas (nl y nCo). Los resultados expresados como % D.O. respecto de la media de los controles, (mediana-rango) fueron: Para IgG1: grupo iCo= 89.5(68.2-118.2), grupo il= 64.6(90.9-40.9); para IgG2a: en iCo= 241.7(166.7-283.3) y en il= 116.7(100-166.7); para IgG2b: en iCo= 341.2(311.8-400) y en il= 264.7(182.4-270.6) (comparación  $p < 0.01$ ); para IgG2c en iCo= 100(80-170) y en il= 70(30-90). Ambos grupos de crías infectadas tuvieron niveles de a-sulf IgG2b que se ubicaron significativamente por encima de los animales controles. No hubo diferencias significativas para ninguno de los anticuerpos medidos al analizar los grupos controles (nl vs nCo). El isotipo predominante de los a-sulf es la IgG2b en este modelo experimental; ante la infección materna, las crías infectadas preservan un menor aumento.

**IM5. Caracterización de anticuerpos anti-sulfocerebrosidos en sueros de ratas chagásicas y controles.** S FELDMAN\*, S REVELLI\*, A MARCIPAR\*\*.

*\* Cátedra de Química Biológica e Instituto de Inmunología de la Fac. Cs. Médicas, U.N.R  
\*\*INTEBIO, U.N.L., Santa Fe.*

En trabajos previos mostramos que ante la infección con *T. cruzi* a ratas «I» los niveles de anticuerpos IgG



anti.sulfocerebrosidos (a-sulf) aumentan. A los fines de caracterizar a estos a-sulf, se obtuvieron fracciones enriquecidas de los mismos a partir del suero de 10 ratas infectadas con *T. cruzi*, 30 días post-infección (I) y del suero de 10 ratas controles (Co): esto se realizó mediante estrategias de purificación de IgG total, diálisis, liofilización y posterior purificación a partir de columna de dextran sulfato, buffer NaCl 0.15M y 1.5M, sucesivamente. Se obtuvieron así dos fracciones de elución para cada uno de los sueros en estudio, una a baja concentración NaCl (f1) y otra a alta concentración de la sal (f2), que coincidieron con los picos de actividad a-sulf. Los valores de concentración de proteínas, así como los niveles de IgG total y actividad a-sulf fueron significativamente mayores para la fracción f2 provenientes de ratas I que para la misma fracción obtenida a partir de los sueros Co ( $p < 0.01$ ). Ensayos de caracterización isotípica mostraron un marcado predominio de a.sulf. IgG2b en la fracción f2 de los sueros de ratas infectadas. Se concluye que en ratas infectadas con *T. cruzi*, se observa un incremento de a-sulf, que eluyen de una columna de dextran sulfato a alta concentración de NaCl con un marcado predominio del isotipo IgG2b.

**IM6. Disminución de las poblaciones T en el timo y las Placas de Peyer (PP) en la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*.** MI ANTUNEZ, RL CARDONI, RE FEINSTEIN, KO GRÖNVIK.

*Instituto Nacional de Parasitología "Dr. M. Fatale Chabén", Av. P. Colón 568, 1063 Bs As; Departamentos de Patología y de Investigación en Vacunas, The National Veterinary Institute, Uppsala.*

Las PP son estructuras especializadas asociadas al intestino con linfocitos de origen tímico. Estudiamos las poblaciones celulares en PP y timo de ratones BALB/c infectados con *T. cruzi*, cepa Tulahuén. En la etapa aguda ambos órganos disminuyeron drásticamente su celularidad, principalmente por la disminución (de aprox. 15 veces) de las células T inmaduras CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> de la corteza tímica, y de las células B y T en las PP. A los 20 días post-infección (pi), pico de parasitemia, se encontraron muy pocas PP (N, normal:  $9.0 \pm 0.3$ ; I, infectado:  $3 \pm 1$ ) que mostraron principalmente una depleción de las áreas T-dependientes. Los estudios por citometría de flujo indicaron una disminución del número de células que expresaban CD4 (N:  $16 \pm 6$ , I:  $2.5 \pm 0.5$ ,  $\times 10^5$ ) y el receptor T ab (N:  $38 \pm 13$ , I:  $6 \pm 4$ ,  $\times 10^5$ ). A las 14 sem pi, se normalizaron la celularidad y los niveles de las subpoblaciones T. Considerando el papel de la PP en el control de las infecciones intestinales, de alta prevalencia en el área endémica, podrían considerarse estos cambios para determinar la necesidad de implementar medidas preventivas. Financiado por SAREC (Suecia) y CONICET (Argentina).

**IM7. Sistema HLA en individuos chagásicos asintomáticos del noroeste argentino.** N GUTIERREZ<sup>1</sup>, J GALINDO<sup>1</sup>, FALFARO<sup>2</sup>, J E DIPIERRI<sup>2</sup>, A GUTIERREZ<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Inmunología y Parasitología (Tucumán); <sup>2</sup>Instituto de Biología de la Altura-Universidad de Jujuy. Mendoza 975 (4000) Tucumán.

El sistema HLA es una herramienta en la investigación de variabilidad y estructura poblacional, biología molecular, inmunogenética y susceptibilidad a las enfermedades. Se presentan los resultados preliminares tratando de analizar la relación entre los antígenos HLA y enfermedad de Chagas en un área del país endémica para esta patología. La muestra estuvo constituida por individuos sin sintomatología chagásica ( $n=280$ ) provenientes de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy; se tipificaron serológicamente antígenos Clase I (locus A y B) y Clase II (locus D r) y se determinaron las frecuencias genéticas para estos 3 loci. En todos se realizó serología para Chagas, Hemoaglutinación Indirecta (HAI) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), se consideraron infectados a aquellos que presentaban ambas pruebas concordantes con HAI igual o mayor a 16 e IFI positivo. Las diferencias genéticas entre los individuos seropositivos y seronegativos se establecieron mediante la prueba  $\chi^2$ . No se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los alelos analizados entre los individuos con serología reactivas para Chagas y los controles no reactivos. Los resultados de este trabajo difieren de estudios previos, también discordantes entre sí, orientados a identificar diferencias genéticas entre individuos con serología para Chagas positiva o negativa. La incongruencia observada entre estos estudios, además de reflejar la probable ausencia de componentes genéticos en la susceptibilidad a la enfermedad de Chagas puede atribuirse, entre otros factores, a la diferencia en la composición étnica de las poblaciones analizadas resultantes de importantes procesos de miscegenación pasados y actuales.

**IM8. Detección de antígenos específicos de esporos de *Microsporidia*.** HD LUJÁN<sup>1</sup>, MC TOUZ<sup>1</sup>, JT CONRAD<sup>2</sup>, CG CLARK<sup>2</sup>, F DELBAC<sup>3</sup>, C VIVARES<sup>3</sup>, TE NASH<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba, CC 35, Suc. 16. CP 5016. Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA. <sup>3</sup>Université Blaise Pascal, 63177 Aubiere Cedex, France.

Los parásitos del Phylum *Microsporidia* son protozoos intracelulares que infectan una gran variedad de organismos vertebrados e invertebrados pero que en la actualidad están emergiendo como una importante causa de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunocomprometidos. Hasta la fecha no existen métodos diagnósticos simples y específicos, ni agentes terapéuticos efectivos contra estos parásitos. El estado infectivo de *Microsporidia* es el esporo. Este posee un extraordinario mecanismo de inyección de su contenido dentro de la célula huésped (el tubo polar) y una pared glicoproteica compleja que le confiere la resistencia necesaria para sobrevivir en ambientes muy hosti-



les. Los esporos de las especies de *Microsporidia* que infectan humanos miden entre 1 y 2  $\mu$ m, por lo que el diagnóstico definitivo requiere la realización de biopsias y el uso del microscopio electrónico. Con el objeto de identificar moléculas que componen la pared del espora y de producir reactivos diagnósticos confiables, generamos anticuerpos monoclonales (mAbs) específicos contra esporos purificados de cultivos celulares infectados con *Enterocytozoon intestinalis* y *Encephalitozoon hellem*. La selección de los hibridomas se realizó por inmunofluorescencia indirecta sobre esas especies y sobre *Encephalitozoon cuniculi* y *Nosema corneum*. Se identificaron 25 mAbs específicos. Veintidos mAbs reaccionaron con la pared de esporos maduros y con parásitos intracelulares en estado esporogónico y tres mAbs con el tubo polar. Algunos fueron específicos contra la especie para la cual fueron producidos y otros detectaron antígenos comunes a cinco especies estudiadas, incluida *E. bienensii*, la especie encontrada con más frecuencia en pacientes infectados con el HIV que padecen diarrea crónica. Esta especie es incapaz de desarrollarse *in vitro* por lo que nuestros mAbs fueron analizados sobre materia fecal de pacientes con SIDA. Además, la mayoría de los mAbs fueron efectivos en dot y Western blot, inmunofluorescencia e inmuno-microscopía electrónica y por lo tanto pueden tener aplicación en la purificación, clonado y detección de antígenos específicos de estos parásitos de gran importancia médica y veterinaria.

**IM9. Identificación de la secuencia N-terminal de una proteína de 23 kDa de los productos de excreción-secreción de *Fasciola hepatica* con actividad supresora de la respuesta blastogénica en ratas. L CERVI, DT MASIH.**

*Parasitología y Micología, Dpto. de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Agencia postal 4 - CC61 (5000). Córdoba*

El objetivo de este trabajo fue tratar de identificar la secuencia N-terminal de las proteínas provenientes de los productos de excreción-secreción de *F. hepatica* con rango de PM comprendido entre 12 y 24 kDa, las cuales demostraron ejercer una actividad supresora de la respuesta proliferativa de células mononucleares de bazo (Cmb) de ratas normales estimuladas con Con A. Los productos excretorios-secretores de *F. hepatica* (PES), fueron fraccionados en 4 rangos de PM: 12-24 kDa, 27-47 kDa, 48-96 kDa y 97-160 kDa a partir de geles de poliácridamida al 10% con SDS. Cada fracción fue eluida de los geles y ensayada individualmente en

cultivos de Cmb estimuladas con Con A durante 96 hs. Luego de este período de incubación se determinó la proliferación celular mediante la incorporación de timidina tritiada. Para realizar el secuenciamiento N-terminal se transfirieron las proteínas de los PES de *F. hepatica* a inmobilon. Las proteínas se identificaron con Coomassie blue y se cortaron los 3 componentes presentes en el rango de 12-24 kDa para su microsecuenciamiento (LANAIS-PRO, CONICET-UBA). La secuencia de péptidos obtenida fue comparada con la base de datos de Swiss Prot usando Fasta algorithm. Los resultados demostraron que la fracción de PM entre 12-24 kDa indujo una disminución significativa en la respuesta proliferativa a Con A ( $p < 0.02$ ), similar a la observada con los PES sin fraccionar. Con los resultados del secuenciamiento N-terminal solo se lograron asignar 18 amino ácidos de la proteína de 23 kDa, la cual demostró homología (59 %) con la glutathion transferasa de *F. hepatica* de 26 kDa. La glutathion transferasa juega un rol central en la detoxificación de compuestos tóxicos endógenos y exógenos y ha sido reportada en *F. hepatica* obtenida a partir de homogenatos del parásito. En el presente trabajo la proteína de 23 kDa fue obtenida a partir de los PES del parásito y tendría probablemente, además de su función enzimática, un rol inmunomodulador en el huésped.

**Metazoos: ME**

**ME1. Pacientes asistidos con diagnóstico de Esquistosomiasis. (1995-1997). E BELLEGARDE, J ABUIN, T ORDUNA, C MIGUEL, C IGLESIAS, N MÉNDEZ, A AMBROGIO, M CABRERA, M RODRÍGUEZ, J BARREIRO, A MARTINO.**

*Secciones Parasitología, Ultrasonografía y U.I. 9. Hospital F. J. Muñoz, Hospital Militar C. Argerich, ANLIS-Malbrán, Hospital Muñoz -Uspallata 2272 (1282). Fax: 203-8108, Buenos Aires, Argentina.*

**OBJETIVOS:** comprobar la eficiencia de diferentes técnicas diagnóstica, la eficacia y ausencia de efectos de la terapéutica con Praziquantel. **PACIENTES, MÉTODOS, Y RESULTADOS:** cinco argentinos, a su vuelta de zonas endémicas de África. **TERAPÉUTICA:** Monodosis de Praziquantel, 40 mg/kg. Excelente tolerancia. **Negativización parasitaria y mejoría clínica.** **CONCLUSIONES:** 1) Anamnesis epidemiológica. 2) Kato Katz indicado en S. Mansonii. 3) Ecografía vesical en formas urinaria. 4) El Praziquantel de elección. 5) Control mediato parasitológico, circulatorio, urinario y neurológico.

Diagnostico	H. Militar 1	2	Pacientes 3	Hospital Muñoz 4	5
Orina	Negativo				
M. Fecal Kato	Huevos de S. mansoni	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Katz	Rectal negativo	Negativo	Negativo	Vesical negativo	Negativo
Biopsia	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ziehl	+	+	+	+	+
Viabilidad	Hepato-esplenomeg S/P	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ecografía hepato-esplec					
E. vesical					
Leucocitosis					
Eosinofilia	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente



**ME2. Frecuencia de *Trichomonas vaginalis* y flora bacteriana asociada en flujo vaginal.** R TONELLI, C SALOMÓN.

*Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Parque Gral San Martín (5500) Mendoza.*

Objetivo: conocer la frecuencia de *Trichomonas vaginalis* y flora bacteriana aerobia asociada en muestras de flujo vaginal. Se estudiaron muestras de flujo vaginal de 500 pacientes ambulatorios de diferentes consultorios de Mendoza que consultaron por prurito, leucorrea (abundante- color amarillo verdoso-mal oliente) y dispareunia. Las edades de las pacientes estaban comprendidas entre 10 y 50 años. Se realizó examen microscópico en fresco, determinación de pH, coloración de Gram Nicolle y cultivos en medios para gérmenes aerobios. La frecuencia de *T. vaginalis* fue de 25% (125 muestras). El rango de pH encontrado fue de 5,8 a 7.

**Resultados:**

EDAD	POSITIVOS / TOTALES	FRECUENCIA %
10-20	25 / 134	18,7
21-30	54 / 172	31,5
31-40	27 / 108	25,0
41-50	19 / 86	22,2

Con respecto a la flora bacteriana aerobia asociada los resultados fueron:

GÉRMESES	FRECUENCIA %
<i>Staphylococcus epidermidis</i> y <i>Streptococcus sp.</i>	31
<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus sp.</i>	22
<i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i>	24
<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i>	16
<i>Gardnerella vaginalis</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i>	7

Conclusión: la mayor frecuencia de *T. vaginalis* se encontró entre los 21 y 40 años. La flora bacteriana aerobia asociada más frecuente es *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus sp.*

**ME3. Estudio comparativo entre la reacción de inmunofluorescencia indirecta para Hidatidosis y la reacción de doble difusión para arco cinco.** C SALOMÓN, F CARRIZO, R TONELLI.

*Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Parque Gral San Martín, (5500) - Mendoza*

Vistos en la necesidad de contar con un método de diagnóstico serológico de la enfermedad hidatídica de rápida ejecución y alta especificidad, sobre todo en pacientes de áreas rurales u hospitalizados, realizamos este trabajo con el objetivo de evaluar la especificidad y sensibilidad de la reacción de inmunofluorescencia indirecta para Hidatidosis (IFI) frente a la reacción de referencia, doble difusión para arco cinco (DD5). Se procesaron por ambas metodologías 275 sueros de

pacientes derivados a nuestra Cátedra con diagnóstico presuntivo de hidatidosis. La reacción de inmunofluorescencia se realizó sobre cortes de escólices fijados en formol y antigamaglobulina marcada con isotiocianato de fluoresceína, ambos de origen comercial. Se tomó como título de corte la dilución 1/40 y la lectura se realizó por doble ciego.

La reacción DD5 se realizó con antígenos y antisueros provistos por el Departamento de Zoonosis Rurales de la Provincia de Buenos Aires.

	DD5	TIF
Especificidad	100 %	98,7 %
Sensibilidad	91 %	95 %

Analizando los resultados por la prueba de  $X^2$ , se comprueba que las diferencias observadas en la sensibilidad y especificidad de ambos métodos no son estadísticamente significativas para el número de muestras ensayadas. Coincidiendo con otros autores, comprobamos la validez del test de inmunofluorescencia indirecto en el diagnóstico serológico de la enfermedad hidatídica.

**ME4. Seroprevalencia de Toxocarosis en un Banco de Sangre de Gualaguaychú (Entre Ríos).** M MINVIELLE<sup>1</sup>, R TAUS<sup>2</sup>, M CIARMELA<sup>1</sup>, A RAFFO<sup>2</sup>, G NIEDFELD<sup>1</sup>, J BASUALDO<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> *Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. 60 y 120 s/n. La Plata. (1900).* <sup>2</sup> *Cátedra de Química Biológica, Facultad de Biotecnología, Universidad Nacional de Entre Ríos. 25 de Mayo N° 701, Gualaguaychú. (2820).*

Toxocarosis es una zoonosis cosmopolita causada fundamentalmente por el nematodo *Toxocara canis*. En nuestro país se considera una parasitosis emergente pero se desconoce su prevalencia en humanos y muchas veces no se contempla su diagnóstico en la práctica médica. El objetivo de este estudio fue evaluar la seroprevalencia de toxocarosis (mediante test de E.I.I.S.A.) en una población seleccionada de la ciudad de Gualaguaychú. Se analizaron los sueros provenientes de 100 donantes de sangre de un instituto privado, de los cuales 72 fueron hombres y 28 mujeres. La edad de la población osciló entre 19 y 75 años, con una media de 39 años. Se registró presencia/ausencia de caninos en el ambiente doméstico, ubicación de la vivienda (urbana/rural), sintomatología asociada a toxocarosis, grupo sanguíneo y factor. La prevalencia de anticuerpos contra *Toxocara canis* fue del 10%, de los cuales el 80% fueron hombres y 20% mujeres. La edad promedio fue de 38 años con un rango de 23 a 46. Del total de los donantes serorreactivos, el 50% tenían perros y el 100% residía en el casco urbano. La relación de la serorreactividad con el Grupo y factor Rh fue del 50% para el grupo O Rh+ y del 50% para el grupo A Rh+. Ninguno refirió sintomatología asociada a toxocarosis. Estos resultados preliminares, demuestran por primera vez en nuestro medio, una alta prevalencia de



toxocarosis en donantes de sangre respecto de otros estudios similares llevados a cabo en otros países.

**ME5. Seroprevalencia de Triquinosis en pobladores rurales de la Provincia de Santa Cruz.** G SANTILLAN, E BONA, G CESPEDES y V MOLINA.

ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". INEI. Av. Velez Sarsfield 563. (1281) Buenos Aires T.E.: 301 - 7437. Fax: 303 - 2382 - e-mail: parasito@mabra.sld.ar

La Triquinosis es una infección de origen alimentario que se transmite de los animales al hombre por consumir carnes contaminadas con larvas viables de *Trichinella spiralis*. En la República Argentina los cerdos criados sin confinamiento y con desperdicios de comida, son los responsables de la mayoría de los casos y brotes conocidos.

En esta presentación se muestran los resultados de pobladores que manifestaron síntomas compatibles con la enfermedad y que registran el antecedente de haber ingerido carne de pumas (*Felis concolor*), se destaca que hay poca información nacional por brotes debidos a la ingesta de carne de fauna silvestre.

Tabla I. Eficiencia del Sistema de diagnóstico para Triquinosis.

Población Número	Screening primario		Confirmación	
	ELISA	E/S %	IFI	%
318	36/318	11.3	31/36	86

Se examinaron 318 muestras de suero de personas que residen en las áreas rurales de Piedra Buena, Calafate y Pico Truncado, Provincia de Santa Cruz. Para determinación de la seroprevalencia de Triquinosis, en el Departamento de Parasitología del INEI, se desarrolló un sistema de diagnóstico basado en la prueba de ELISA con antígeno excretor-secretor de larvas de 2º estadio como screening primario, la confirmación inmunológica se basa en la técnica de inmunofluorescencia indirecta empleando como antígeno cortes de larvas de *T. spiralis* obtenidas por micrótopo de congelación. Estos resultados indican que el 9.7% de la población intervenida tiene anticuerpos anti-*Trichinella* sp. y sugieren que se debería investigar la posible existencia de un ciclo silvestre en esa región del país.

**ME6. Reacción inflamatoria crónica de *Cynoscion striatus* (Pisces) frente a larvas de tercer estadio de *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda: Anisakidae).** R D TANZOLA, S E GUAGLIARDO.

Laboratorio de Parasitología Animal (UNS). San Juan 670 (8000) Bahía Blanca, ARGENTINA. e-mail: rtanzola@criba.edu.ar

Se describe la respuesta tisular de la pescadilla frente a larvas de tercer estadio de *Pseudoterranova decipiens* alojadas en la cavidad visceral de la pesca-

dilla de red (*Cynoscion striatus*). Los peces, procedentes del área estuarial externa de Bahía Blanca (38°45'S 62°15'W), fueron eviscerados inmediatamente post-mortem a bordo de embarcaciones pesqueras, habiéndose fijado pequeñas porciones de peritoneo parasitado en solución de Bouin acuoso. Posteriormente se aplicaron técnicas histológicas de rutina (deshidratación alcohólica, inclusión en parafina, corte a 7 mm de espesor y coloraciones con hematoxilina-eosina, tricrómica de Masson y PAS).

Se observaron larvas vivas al momento de la necropsia y fijación. Los parásitos se hallaron encapsulados mediante una reacción tisular de tipo crónico compuesta por un acúmulo ceroidal de *lipofucsina* rodeando a cada verme, encerrado por una doble cápsula reactiva. El pigmento, un derivado del catabolismo lipídico del pez, probablemente se origine en la destrucción de macrófagos viscerales que infiltran la cápsula. La cantidad de ceroidal depositado varió en distintas larvas, pudiendo ello relacionarse con la antigüedad de la reacción así como con el tamaño del verme. La membrana capsular interna presentó un predominio de macrófagos y células epiteloides. Por último, una membrana externa, formada por fibroblastos y fibras colágenas, limita la cápsula y puede extenderse al peritoneo circundante o integrar cápsulas reactivas contra otros helmintos co-ocurrentes (por ejemplo cestodos tripanorinicos y acantocéfalos polimorfidos). Se observaron abundantes acúmulos extracapsulares de melanina de origen macrófago. La presencia de acúmulo pigmentario así como de dos estratos capsulares dominados por células de estirpes macrófago-fibroblástica constituyen signos de cronicidad en la reacción. Las observaciones realizadas son consistentes con los datos bibliográficos referidos a infecciones naturales por larvas de *Pseudoterranova decipiens* en peces del Atlántico norte.

**ME7. Recursos marinos costeros del estuario de Bahía Blanca portadores del anisakido *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda).** RD TANZOLA, SE GUAGLIARDO, SM BRIZZOLA, MV ARIAS.

Laboratorio de Parasitología Animal, UNS. San Juan 670 (8000) Bahía Blanca, Argentina. e-mail: rtanzola@criba.edu.ar

*Pseudoterranova decipiens* es un nematode parásito al estado adulto de lobos marinos cumpliendo fases larvales en vísceras y musculatura de invertebrados y peces. Actualmente se lo considera patógeno potencial humano asociado a la ingesta de pescado sin cocción. Ello genera cuadros gastrointestinales de tipo granulomatoso, infiltrados eosinofílicos, abscesos flemosos y síndrome abdominal agudo de difícil diagnóstico. La casuística mundial de la anisakiasis por *P. decipiens* crece a diario en proporción al deterioro en las prácticas de higiene alimentaria, así como a la difusión de nuevas alternativas en la preparación de platos exóticos a base de pasta de pescado crudo. Se ha considerado de interés realizar un relevamiento de espe-



cies portadoras en el estuario de Bahía Blanca, algunas de las cuales constituyen recursos de explotación comercial para consumo regional fresco. Se examinaron a lupa binocular las vísceras de 666 peces en fresco pertenecientes a 12 especies. Se estudiaron los vermes mediante fijación en alcohol 70%, transparentación en lactofenol de Amann y morfometría. Se hallaron como portadoras las siguientes especies de teleosteos: pescadilla (*Cynoscion striatus*), corvina blanca (*Micropogonias furnieri*), congrio (*Conger orbignyanus*), anchoa de banco (*Pomatomus saltatrix*), pejerrey (*Odontesthes bonariensis*), pez palo (*Percophis brasiliensis*), mero (*Acanthistius brasiliensis*), sarda (*Brevoortia aurea*) y sapo de mar (*Porichthys porosissimus*). Los peces cartilaginosos gatuso (*Mustelus schmitti*) y raya (*Sympterygia bonapartei*) presentaron larvas en el lumen digestivo considerándose provenientes de presas digeridas. En tanto la raya *Sympterygia acuta* se halló con invasión larval del estroma hepático. Teniendo en cuenta que existe una correlación positiva entre la densidad de larvas en vísceras y musculatura estriada esquelética (filet), se alerta ante el empleo de los citados peces óseos para el consumo de su carne sin previa cocción.

**ME8. Nematodes Anisakidae en la pescadilla de red (*Cynoscion striatus*): Dinámica poblacional. SE GUAGLIARDO, RD TANZOLA.**

Laboratorio de Parasitología Animal, UNS. San Juan 670 (8000) Bahía Blanca, Argentina. e-mail: rtanzola@criba.edu.ar

Se estudia la dinámica poblacional de las especies de nematodos anisákidos presentes en la pescadilla de red. Se determinaron los vermes por métodos helmintológicos de rutina. Se estimaron parámetros poblacionales para cada una de las especies y se realizó un análisis estadístico mediante pruebas no paramétricas. Se procesaron 101 pescadillas (48 hembras y 53 machos) de edades comprendidas entre 5-20 años y tallas totales de 430-521 mm procedentes del estuario de Bahía Blanca (38°45'S; 62°15'W) capturadas en dos épocas: setiembre-octubre (primavera; N= 53) y marzo-abril (otoño; N= 48). Se hallaron las siguientes especies y características poblacionales: *Anisakis simplex* L<sub>3</sub> (N= 96; prevalencia (P)= 37.62%; abundancia(A)= 0.95 e intensidad media (I) = 2.53), *Pseudoterranova decipiens* L<sub>3</sub> (N= 357; P= 71.28%; A= 3.53 ; I = 4.96) y *Contracaecum* cfr *osculatum* L<sub>3</sub> (N= 713; P= 90.09%; A= 7.06 ; I = 7.83). No se hallaron diferencias significativas entre las prevalencias de las tres especies respecto del sexo del huésped como así tampoco entre las épocas de muestreo. Se encontraron diferencias significativas entre sexos en relación a la abundancia de *P. decipiens* (Kruskal-Wallis H=5.18 p< 0.05). Del mismo modo la abundancia de *A. simplex* fue diferente en primavera y otoño (H= 4.02 p< 0.05). *P. decipiens* se halló asociado a *A. simplex* y *C. cfr osculatum* (j= 0.26 p< 0.01 y j= 0.30 p< 0.01, respectivamente). Las especies se distribuyen en forma sobredispersa ajustando satisfactoriamente a un modelo binomial negativo. Se observa una correlación altamente significativa, aunque baja ( $r_s$   $\pm$  0.50) entre la edad

del pez y la abundancia de los tres anisákidos, debida en parte al efecto acumulativo del parasitismo visceral. La talla del pez se halló significativamente correlacionada con la abundancia en *A. simplex* y *C. cfr osculatum* no así en *P. decipiens*. El anisákido dominante de la helmintofauna de *C. striatus* es *C. cfr osculatum*. Los patógenos humanos *A. simplex* y *P. decipiens* parasitan a la pescadilla con prevalencias moderada a alta, aunque poco abundantes y en baja intensidad.

**ME9. Tratamiento de hidatidosis hepatopulmonar. JJ YAZYI, HN ARENAS, SR COSTAMAGNA.**

Hospital de evacuación 181. Florida 1200. Villa Floresta. (8000). Bahía Blanca. Argentina. E-mail: rcostama@criba.edu.ar

En los últimos 25 años, hemos tratado 743 enfermos con diagnóstico de hidatidosis, siendo la localización hepática la más frecuente (72.5%), siguiéndole la pulmonar con un 17.5%. En virtud de que aún existen diversas técnicas quirúrgicas para resolver por esta vía el problema, presentamos un video con la técnica quirúrgica empleada para los dos últimos casos: experiencia obtenida en el tratamiento médico-quirúrgico de dos pacientes con quistes hidatídicos de localización hepatopulmonar múltiple. Se detalla sintomatología al ingreso, con dolor en abdomen superior y vómitos como los más frecuentes, hemoptisis con esputo negativo para células atípicas y bacilo de Koch. La localización hepatopulmonar del quiste, su contenido líquido, su forma y dimensiones fueron establecidas por radiografía y ecografía, mientras que la tomografía computada precisó mejor la opacidad redondeada de bordes difusos en el segmento medial del lóbulo medio del pulmón derecho y las múltiples localizaciones hepáticas. El Arco-5 y la Hemoaglutinación indirecta (HAI) arrojaron resultados positivos en los dos casos presentados. La elección de la táctica quirúrgica fue el jalón fundamental. La vitalidad de los protoescolices fue comprobada por la técnica del Azul de metileno. El tratamiento médico se efectuó con benzimidazoles. El control serológico, que continúa con HAI, se realiza trimestralmente durante dos años. La técnica quirúrgica empleada, que se muestra en el video, es sugerida.

**ME10. Demodex. Spp.: Patógeno, Oportunista o Comensal?. SR COSTAMAGNA, I CAFERRI, G NIIZAWA, P FORGUE.**

Servicios de Laboratorio y Dermatología. Hospital de Evacuación 181. Florida 1200. Villa Floresta. (8000). Bahía Blanca. Argentina. E-mail: rcostama@criba.edu.ar

Desde su descubrimiento por OWEN en 1843, el *Demodex folliculorum* fue y es tema de debate respecto de su verdadero rol en patología dermatológica. Numerosos trabajos lo muestran como el principal implicado en dermatitis humanas, sin descartar al *Demodex brevis* quien también participaría en estas dermatopatías. Para evaluar el verdadero rol de este artrópodo en pa-



tología humana, se realizó un estudio epidemiológico de casos y controles en dos grupos de pacientes que concurrían al servicio de Dermatología del H Evac 181, Bahía Blanca, Argentina. Se estudiaron dos grupos de 20 pacientes cada uno, cuya edad oscilaba entre 20 y 50 años. Los casos presentaban, al momento de la consulta, eccematide seborreica o rosácea, mientras que el grupo control piel normal. La selección fue efectuada por médico dermatólogo. La búsqueda del artrópodo se efectuó por método parasitoscópico directo, sobre muestras de cara exclusivamente, obtenidas con cinta adhesiva transparente aplicada sobre la piel y colocada luego sobre un portaobjetos para su posterior observación. La concentración parasitaria fue medida por el número de especímenes encontrados por centímetro cuadrado de piel estudiada. Hemos encontrado *Demodex spp.* asociados con rosácea (especialmente *D. brevis*), inflamación perifolicular, otitis, y sobreaquejado en infecciones del conducto nasal, en seis casos en total (30%), siendo negativos los exámenes en los controles. En los casos estudiados, hemos observado que siempre que se demostró la presencia del ácaro existía una disminución del estado anímico de los pacientes, stress y antecedentes cercanos o superpuestos con afecciones víricas. Todos los casos fueron tratados con Permetrina crema al 5%, con resultados satisfactorios en el 60% de los casos. Las investigaciones continúan, orientadas en estos momentos hacia inmunosuprimidos (HIV positivos), en donde estos sucesos se magnifican.

**ME11. Toxocarosis asociada a una dermatopatía: Eczema.** A LONGOBARDI\*, N RADMAN\*\*, M GUARDIS\*\*, S ARCHELLI\*\*, R FONROUGE\*\*.

\*Servicio de Alergia. HIGA Gral. San Martín. \*\*Cátedra de Parasitología Comparada. Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias. U.N.L.P.

La toxocarosis humana es una enfermedad parasitaria producida por larvas migrantes de nematodos de perros, gatos y bovinos, *Toxocara canis*, *T. cati* y *T. vitulorum* respectivamente. **Objetivo:** Describir un caso de toxocarosis eczemática y su terapia con mebendazol. **Mat. y Met:** Paciente de 88 años de edad, residente en zona rural, con contacto con animales domésticos. Sin antecedentes de enfermedad atópica, presentó durante 5 años un cuadro de eczema generalizado que respetaba solo la cara. Fue medicado en ese lapso con distintos corticosteroides. Se le realizaron estudios: Examen clínico, radiografía de tórax, coproparasitológicos, biopsia de piel, hematológicos y serológicos: IgG *T. canis* (ELISA). **Resultados:** Paciente afebril, con placas confluentes liquenificadas, prurito con excitación nerviosa. Infiltrados pulmonares difusos. Eczema inespecífico. No se observaron elementos parasitarios. Eosinofilias de 38% y 56%. ELISA 785 do (positivo a partir de 443 do) **Tratamiento instaurado:** mebendazol 200 mg/día/21 días. El eczema remitió durante el curso del tratamiento, observándose descenso de los eosinófilos con cifras próximas a la normalidad. **Conclusiones:** el caso podría

deberse a una toxocarosis eczemática y el mebendazol actuó en este paciente como una medicación efectiva.

**ME12. Toxocarosis encubierta y enfermedades alérgicas.** G NIEDFELD (1), M MINVIELLE<sup>1</sup>, A DE FALCO<sup>2</sup>, H GHIANI<sup>2</sup>, P PAULIN<sup>3</sup>, M CIARRELLA<sup>1</sup>, J. BASUALDO<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Cát. de Microbiología y Parasitología, Fac. de Cs. Médicas, U.N.L.P. 60 y 120 s/n. La Plata. (1900). <sup>2</sup> Scio. de Alergia Hospital Rossi. La Plata. <sup>3</sup> Hospital Garrahan, Capital Federal.

El objetivo fue demostrar Toxocarosis encubierta, generalmente ignorada, en pacientes con síndromes alérgicos. Se estudiaron 41 pacientes (66% mujeres y 34% hombres). Se les realizó un examen clínico completo con hemograma, concentración de IgE total, determinación de anticuerpos antitoxocara de tipo IgG e IgE (test de Elisa) y análisis coproparasitológico seriado. Todos los pacientes fueron sometidos a testificaciones cutáneas frente a los alérgenos habituales y al antígeno excretor/secretor de *T. canis* (Ag E/S) obtenido en la Cát. de Microbiología y Parasitología. Según los resultados de la serología IgG (+):29,26% e IgE (+):24,39%, se diferenciaron cuatro grupos de pacientes: 1- IgG e IgE (+):14,6%; 2- IgG (-) e IgE (+):9,75%; 3- IgG (+) e IgE (-):14,6% y 4- IgG e IgE (-):60,97%. El síndrome asmático predominó en los grupos 1, 2 y 3 (83,3%; 50% y 66,6% respectivamente), mientras que en el grupo 4 solo fue del 20% destacándose en este último la rinosinusitis (40%). La eosinofilia se presentó en mayor porcentaje en el grupo 3 (83,3%) siguiéndole en orden: grupo 1 (66,6%), grupo 2 (25%) y grupo 4 (16%). El 100% de los pacientes de los grupos 1 y 3 tenían IgE total elevada, el 60% del grupo 4 y ninguno del grupo 2. Todos los grupos evidenciaron test cutáneo positivo para los alérgenos habituales. El Ag E/S fue positivo en el 100% de los del grupo 2, en el 83,3% del grupo 1, en el 50% del grupo 3 y en el 20% del grupo 4. El examen coproparasitológico fue negativo en todos los grupos. Del análisis de los resultados se interpreta: **Grupo 1:** La toxocarosis se manifiesta como enfermedad alérgica predominando toxocarosis asmático con eosinofilia y ascenso de IgE total. La mayoría presentó hipersensibilidad tipo I al Ag E/S. **Grupo 2:** Toxocarosis en estadio temprano: con IgE específica detectable, valores normales de IgE total y solo un 25% de los pacientes con eosinofilia. Todos presentaron reactividad cutánea al Ag E/S. **Grupo 3:** Formado por enfermos alérgicos que cursan una toxocarosis encubierta con eosinofilia e IgE total elevada. El 50% presentó hipersensibilidad tipo I al Ag E/S. **Grupo 4:** Son pacientes alérgicos con serología negativa. (R: Reactivo) (NR: No R)

**ME13. Infección por *Strongyloides stercoralis* y agravamiento de una neumopatía por la presencia del parásito.** P ALTAMIRI<sup>1</sup>, G SALGUERO<sup>1</sup>, C COLOMBO<sup>1</sup>, H ENCAJE<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Servicio Laboratorio, <sup>2</sup> Servicio Clínica Médica. Htal. Zonal Gral. de Agudos Narciso López. O'Higgins 1333 Lanús E. (1824) Bs.As.



**OBJETIVO:** Demostrar que la ausencia de los síntomas o índices característicos de las parasitosis, no descarta la posibilidad de padecer las mismas. Se internó un paciente con neumopatía, febril, EPOC, con antecedentes de TBC, con leucocitosis sin eosinofilia y fuerte reacción inflamatoria en el esputo con baciloscopia negativa y estudio bacteriológico del mismo sin particularidades. El paciente refirió haber estado trabajando poco tiempo antes en tareas de cosecha en la provincia de Corrientes. **MÉTODOS:** Se procedió a efectuar estudios radiológicos, de rutina de laboratorio y reacción de HIV (negativa). No se obtuvo mejoras en el paciente al tratarlo con antibióticos. Se indicó efectuar un examen parasitológico en materia fecal seriado tomado en formol al 10% y una muestra en fresco. Estas muestras fueron examinadas por las técnicas de Telemann modif., Willis y de Baermann. **RESULTADOS:** Se encontraron larvas de *Strongyloides stercoralis*. Se estudio también muestras de esputo y orina siendo en estos dos casos los resultados negativos. Con estos resultados se procedió al tratamiento antiparasitario con mejora del estado general del paciente. **CONCLUSIÓN:** Se concluye que los parásitos pueden exacerbar algunas patologías de base, siendo conveniente la búsqueda sistemática en pacientes resistentes a tratamientos específicos para estas.

**ME14. Infección por parásitos intestinales en población menor de 6 años de edad internados en hogares del Conurbano Bonaerense.** M PINTO, M CABRERA, M RODRIGUEZ, L LATAPIE, R EYHERABIDE.

ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". INEI. Av. Vélez Sarsfield 563 (1281) Buenos Aires T.E. 301-7437 Fax: 303-2382 - e-mail: parasito@mabra.sid.ar

Las áreas de urbanizaciones rápidas y desordenadas, donde predominan los materiales de construcción transitorios y la falta de servicios básicos, transforman áreas con calidad de vida potencialmente satisfactoria en sitios donde prevalecen como un indicador de subdesarrollo, las enfermedades por parásitos intestinales. Este patrón se repite en numerosos lugares del conurbano bonaerense donde se encuentran altos índices de parasitación, especialmente de los patógenos por competencia de nutrientes, como los helmintos en general. Se evalúa el grado de parasitación de una población de menos de 6 años; utilizando las técnicas de Telemann modificado, Willis, Sheather y coloración de Kinyoun. Parásitos intestinales en población infantil preescolar. San Martín, Bs. As.

EDAD años	POBLAC. n° individuos	PROTOZOARIOS		HELMINTOS		
		patógenos	no patógenos	Geo. helm.	Antropo- nóticos	Ambos
1	4	25.0 %	25.0 %	25.0 %	-	-
2	12	25.0 %	20.0 %	-	25.0 %	-
3	22	31.8 %	40.9 %	-	36.4 %	4.5 %
4	16	37.5 %	75.0 %	6.2 %	43.7 %	-
5	20	20.0 %	65.0 %	5.0 %	50.0 %	5.0 %
6	9	33.3 %	66.6 %	-	33.3 %	11.1 %

La prevalencia de los parásitos intestinales, principalmente helmintos antroponóticos sugiere la necesidad de evaluar la aplicación de un Programa de Control. Protozoarios Patógenos: *Cryptosporidium sp.*, *G. lamblia*, *E. histolytica*. Geohelmintos: *A. lumbricoides*, *S. stercoralis*, Uncinarias, *T. trichiura*. Helmintos antroponóticos: *E. vermicularis*, *H. nana*.

**ME15. Impacto de la infección por Enteroparásitos en alumnos de una escuela primaria del conurbano bonaerense.** E GUARNERA, R EYHERABIDE, M RODRIGUEZ, M CABRERA.

ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". INEI. Av. Vélez Sarsfield 563 (1281) Buenos Aires T.E. 301-7437 Fax: 303-2382 - e-mail: parasito@mabra.sid.ar

El intestino del hombre es el habitat de numerosos microorganismos (protozoarios) y helmintos (metazoarios) que por carecer de órganos para cumplir todas las funciones vitales de los seres vivos deben tomar nutrientes, oligoelementos y distintos precursores químicos de los organismos superiores a los que parasitan. Se conoce como edad de oro para los enteroparásitos a la primera infancia y la edad escolar, en este periodo las poblaciones parasitarias son más diversas y numerosas y el impacto que producen en el desarrollo pondoestatural e intelectual son persistentes y dejan secuelas. En el cuadro se presenta como indicador de la situación el porcentaje de alumnos parasitados de una escuela del conurbano Bonaerense.

Tabla I Frecuencia Relativa de enteroparásitos en niños de 6 a 12 años, San Martín, Buenos Aires.

Grado	Edad (Años)	ProtozoariosHelmintos				
		Patógenos %	No Patóg. %	Geohel- mintos %	Antropo- nóticos %	Ambos %
1º	6	37.0	76.7	4.3	55.8	13.9
2º	7	20.0	80.0	24.0	56.0	-
3º	8	41.6	75.0	29.1	37.5	8.3
4º	9	31.2	68.7	12.5	56.2	6.2
5º	10	16.6	83.3	-	33.3	-
6º	11	27.2	72.7	18.1	54.5	9.1
7º	12	22.2	66.6	-	44.4	-

Estos valores sugieren que el control de las infecciones parasitarias en la población escolar debe ser un componente esencial en los programas de maternidad e infancia.

**ME16. Prevalencia de parasitosis intestinales y geohelmintiasis en áreas rurales y urbanas de Tucumán.** NI GUTIERREZ, HS SANCHEZ, AP FORMICA, SC VIAPIANO, CA RIGOURD, MF REINA, CI SULAIMAN, E PEREA.

Cátedra de Parasitología y Terapéutica Antiparasitaria. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Tucumán. Bolívar 913, (4000) Tucumán.



Las parasitosis intestinales constituyen un problema de salud en la provincia de Tucumán. Ante la posibilidad de ejecutar un plan de control y erradicación de geohelmintiasis y debido a la ausencia de información actualizada, para contribuir al conocimiento de la magnitud y determinar la prevalencia y frecuencia de las mismas especialmente los geohelminthos. Se dividió la provincia en dos zonas de distintos climas, Este, seca y Oeste, húmeda, seleccionando localidades del norte, centro y sur, en el período 1996. Se obtuvieron 679 muestras de personas de ambos sexos de 1 a 18 años de edad. La recolección de materia fecal fue de un día sin conservantes con un escobillado anal. Se procesaron con examen directo, Telemán, Willis, Graham y Kato Katz. Del total de la población estudiada, el 82% estaba infectada y de esta el 29% presentaba poliparasitismo, se detectaron *Giardia* I, *A. coli*, *B. hominis*, *Chilomastix m.*, *Iodameba*, Oxiuros, *Ascaris*, *Trichocefalos*, *Strongyloides s.*, *Uncinarias*, *Taenias* y *H. nana*. Los protozoarios mas frecuentes en ambas zonas son *Giardia* 28% y *A. coli* 12%; de los helmintos Oxiuros 49% y *Ascaris* 29%. En la zona Este se observó disminución de la prevalencia de los geohelminthos: de un 7% de *Ascaris* y 2% de *Trichocefalos*, comparado con el 52% y el 16% respectivamente de la zona Oeste, y la ausencia de *Strongyloides* y *Uncinarias*. Esta diferencia se debería a factores ambientales. De estos resultados preliminares concluimos que la casi totalidad de las personas estudiadas están parasitadas y la mitad de ellas por geohelminthos.

**ME17. Condiciones de saneamiento básico y parasitosis intestinales en El Churqui-Departamento Monteros, Tucumán.** SC VIAPIANO, NI GUTIERREZ, JS VIAPIANO.

*Cátedra de parasitología y Terapéutica antiparasitaria, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Tucumán y Departamento de saneamiento básico del Si.Pro.Sa. Bolívar 913 (4000) Tucumán.*

El Banco Mundial en diciembre de 1996, informa que Tucumán tiene un 34% de familias por debajo de la línea de pobreza; el 65% de los pobres no tiene acceso al agua corriente ni a cloacas. El 25% de la población de Tucumán (300.000 personas) consumen agua de primera napa, esta es la que se contamina con facilidad ya que el 100% de estas personas defeca en letrinas no sanitarias, pozo ciegos y a cielo abierto. Se intentó determinar las condiciones de saneamiento básico y las parasitosis intestinales. Se realizó una encuesta sobre saneamiento, seleccionando 43 viviendas por muestreo sistemático un paso cada dos, tomándose muestras de agua para análisis bacteriológico y por sorteo sistemático se practicó examen parasitológico de materia fecal de un día sin escobillado anal, a un niño de hasta 12 años por vivienda. De la encuesta se detectó un 33% de hacinamiento; la basura era incinera-

da en el 88%; el 100% no poseía eliminación de excretas sanitarias; toda el agua bebida provenía de pozos y acequias, el 90% de ella no era potable, por presencia de bacterias coliformes y pseudomona aeruginosa. El 83% de los estudios estaban parasitados con alta prevalencia de geohelminthos, con 48% de *Trichocefalos* y 44% de *Ascaris*. Concluimos que ninguna familia tiene buenas condiciones de saneamiento básico, que 9 de cada 10 personas consume agua no potable y 8 de cada 10 niños estaban parasitados.

**ME18. Frecuencia de parasitosis infantil en la ciudad de Rosario.** M ZDERO, MD VASCONI, I NOCITO, P PONCE DE LEON, G BERTORINI, C ECHENIQUE.

*Area Parasitología. Fac. de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. Suipacha 531. 2000 Rosario.*

Durante un período de 5 años se estudiaron muestras de heces de 8717 niños (4367 mujeres y 4350 varones) menores de 13 años en el laboratorio de Parasitología del Hospital Provincial del Centenario de la ciudad de Rosario. El objetivo fue determinar la frecuencia de los distintos enteroparásitos en esta población. A todas las muestras se les realizó: a) un examen microscópico directo sin y con coloración (100 x y 400 x aumentos) para la búsqueda de trofozoitos, quistes, ooquistes y/o larvas de enteroparásitos y b) un examen macroscópico para la identificación de helmintos. Sólo a 4847 pacientes se les pudo realizar un hisopado anal seriado (MEGA) para la búsqueda de *Enterobius vermicularis*. El 61,03 % de los niños presentaron por lo menos un enteroparásito, resultando 48,87 % monoparasitado, 29,28 % bi, 13,80 % tri, 5,69 % tetra, 1,83 % penta y 0,53 % con 6 o más parásitos. La frecuencia de aparición de los parásitos en las muestras fecales de la población estudiada fueron: *Blastocystis hominis* 29,28 %, *Giardia lamblia* 26,27 %, *Entamoeba coli* 13,24 %, *Ascaris lumbricoides* 7,97 %, *Endolimax nana* 6,64 %, *Hymenolepis nana* 3,95 %, *Chilomastix mesnili* 1,60 %, *Enterobius vermicularis* 1,09 %, *Trichuris trichiura* 0,85 %, *Iodamoeba butschlii* 0,53 %, *Strongyloides stercoralis* 0,52 %, *Uncinarias* 0,20 %, *Taenia sp* 0,06 % y *Trichomonas hominis* 0,03 %. La frecuencia de aparición de *E. vermicularis* se vio incrementada de 1,09 % a 20,91 %, porque la realización de los hisopados anales seriados resultaron positivos en un 35,65 %. Es importante remarcar la utilización de técnicas específicas (M.E.G.A. y/o GRAHAM) para la búsqueda de *E. vermicularis*. En el presente trabajo se puede observar un incremento significativo de este parásito, porcentaje aún subvalorado por no haber sido posible realizarlo en la totalidad de los pacientes. El hallazgo de un porcentaje elevado de parásitos permite inferir que continúa sin solución la problemática de saneamiento ambiental, y crea la necesidad de instrumentar una adecuada política de educación sanitaria con control parasitológico periódico de la población.



**ME19. Prevalencia de parasitosis intestinal en niños de la ciudad capital de San Luis.** C GIBOIN de DI SISTO, N BONARDELLO.

Proyecto 7310, Ciencia y Técnica, Facultad de Química Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis. Laboratorio de Salud Pública de la Provincia de San Luis - Junín y Falucho - 5700 - SAN LUIS

Las parasitosis intestinales constituyen enfermedades muy frecuentes en nuestra población infantil, situación que se ve favorecida por los graves problemas socio-económicos actuales. El presente trabajo tiene como objeto evaluar, en un barrio carenciado de la ciudad de San Luis, el porcentaje de niños parasitados. Al estudiar una población de 196 niños, de 6 a 13 años y de ambos sexos, resultó que 102 (51 %) estaban parasitados. Se utilizaron para el examen parasitológico procedimientos macroscópicos y microscópicos (Método de Willis, Técnica de Carles y Barthelemy, escombillo anal y Test de Graham). RESULTADOS: Las parasitosis intestinales más frecuentes identificadas fueron:

<i>Enterobius vermicularis</i>	39 %
<i>Giardia intestinalis</i>	26 %
<i>Blastocystis hominis</i>	20 %
<i>Entamoeba coli</i>	11 %
<i>Hymenolepis nana</i>	2 %
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2 %

CONCLUSION: Los resultados obtenidos nos permiten inferir que las principales vías de transmisión de las parasitosis intestinales son la falta de higiene individual y comunitaria.

**ME20. Enteroparasitismo en población rural infantil del Norte del Partido de Carmen de Patagones.** Provincia de Buenos Aires. Argentina. O. TORNO, S. GARCIA, M.I. PRAT, E. VISCIARELLI, R. COSTAMAGNA, J. OSORIO, B. SANTAMARIA.

Cátedra de Parasitología Clínica. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670. (8000). Bahía Blanca. Argentina y Municipalidad de Carmen de Patagones. Pcia. Bs. As. Argentina.

Como parte del Programa de Atención Primaria de la Salud (APS) año 1996, y en virtud de no existir datos epidemiológicos referidos al enteroparasitismo en niños de 0 a 14 años residentes en la zona norte del Partido de Carmen de Patagones, es que se realizó el presente estudio epidemiológico descriptivo. Del total de 400 niños residentes en esta zona rural se estudiaron 210, a los que se les efectuó un estudio parasitológico directo seriado (7 días) de heces recolectadas en formol 10% y mucus anal (test de las gasitas) durante igual período. Los resultados muestran que un 60,5% de estos niños son portadores de algún parásito intestinal. El monoparasitismo hallado entre los positivos fue del 70%, mientras que el 30% restante presentó entre 2 y 5 formas parasitarias. El espectro parasitario fue el

siguiente: *Entamoeba coli* 31,5%; *Giardia lamblia* 24,7%; *Enterobius vermicularis* 18%; *Hymenolepis nana* 10,4%; *Blastocystis hominis* 10,3%; *Chilomastix mesnili* 2,5%; uncinarias 1%; *Entamoeba histolytica* 0,9% y *Trichuris trichiura* 0,5%. Si bien la distribución parasitaria en las distintas áreas de la zona en estudio fue en general homogénea, para el caso particular de *H. nana*, se observó que del 10,4%, un 92,4% correspondió a zona de riego, mientras que el 7,6% restante se presentó en zona seca. La alta prevalencia del enteroparasitismo hallado, la presencia de un alto porcentaje de población migratoria, las deficientes condiciones de vida observadas y la falta de estudios epidemiológicos descriptivos en esta zona rural, hace imperativo la continuación de este estudio, comunicando a las autoridades sanitarias los resultados obtenidos.

**ME21. Frecuencia de parásitos intestinales en una población infantil en Mendoza (Argentina).** C. SALOMON, F. CARRIZO, R. TONELLI, C. BORREMANS, D. BERTELLO.

Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Centro Universitario, Parque General San Martín (5500) Mendoza.

Objetivo: conocer la frecuencia de los distintos parásitos intestinales en una población infantil en Mendoza. Materiales y métodos: muestras fecales seriadas (7 días) y 3 tirillas para Test de Graham, de 180 niños, con edades entre 3 meses y 14 años, con diagnóstico clínico presuntivo de parasitosis intestinal. Se realizó examen macroscópico, microscópico directo y previo enriquecimiento (Telemann modificado), con coloraciones MIF y Kinyou; observación directa de las tirillas de Graham. Resultados: en 81 (45%) del total se demostró la presencia de parásitos; de ellos, parasitosis única en 29 (36,6%), y múltiple en 52 (63,4%). El grupo etario más afectado fue entre los 0 y 4 años, con 37/68 (54,4%), seguido por el grupo de 5 a 9 años (30/73, 41,0%), y el de 10 a 14 años, con 14/39 (28,7%). Sin diferencias significativas según sexo.

<i>E. coli</i>	68	83,9%
<i>E. nana</i>	26	32,1%
<i>A. l. bütschlii</i>	1	1,2%
<i>G. intestinalis</i>	41	51,6%
<i>T. hominis</i>	2	2,46%
<i>C. mesnili</i>	5	6,2%
<i>B. hominis</i>	68	83,9%
<i>Cryptosporidium sp.</i>	2	2,5%
<i>H. nana</i>	8	9,9 %
<i>S. stercoralis</i>	2	2,5%
<i>E. vermicularis</i>	35	43,2%

Conclusión: se observa un marcado índice de parasitosis intestinal en la población estudiada, con predominio de *Entamoeba coli*, *Blastocystis hominis*, *Giardia intestinalis* y *Enterobius vermicularis*.



**ME22. Prevalencia de Strongyloidosis en Pacientes Pediátricos del Hospital Provincial de Pediatría de Posadas (Misiones).** J DESCHUTTER\*, J GRENÓN\*\*, G SILVA\*\*\*, L BIRÓ ALEMAN\*\*, G CONGOST\*, F GALARZA\*\*\*.

\*Cátedra de Parasitología, Fac. Cs. Ex. Qcas. y Nat. U. Na. M.; \*\*Hospital Provincial de Pediatría, \*\*\*Carrera de Especialización en Microbiología Clínica, Fac. Cs. Ex., Qcas. y Nat. U. Na. M.

Misiones por sus características de relieve, clima y suelo es favorable a la proliferación de geohelminths. El Hospital Provincial de Pediatría es el centro de referencia de la población de nivel socio económico bajo que requiere internación. Con objeto de conocer prevalencia en esta población pediátrica se examinaron entre porta y cubre muestras fecales recogidas en forma seriada a 3179 niños menores de 14 años internados (314) y ambulatorios (2865) en el servicio de laboratorio del Hospital Provincial de Pediatría entre el 1 de enero y el 31 de diciembre de 1996. Se observaron parásitos en 1545 pacientes (48,6%), y en 148 (4,6%) la presencia de *Strongyloides stercoralis*. Del total de niños parasitados, a 134 se los clasificó en grupos etáreos, correspondiendo: (A) 21 (15,7%) menores de 2 años; (B) 38 (28,4%) entre 2 y menos de 4 años; (C) 36 (26,9%) entre 4 y menos de 9 años y (D) 39 (29,1%) entre 9 y menos de 14 años. El grupo (A) registró 9 internados analizándose los parámetros: 1-Desnutrición: 8 pacientes ingresaron como desnutridos, 5 graves de grado III con edema; 2-Nivel de instrucción en grupo familiar: para 7 pacientes ningún adulto del grupo completo estudios primarios; 3-Situación laboral: para 7 pacientes ningún adulto del grupo familiar registró trabajo estable; 4-características de viviendas: en 6 pacientes se informó viviendas de madera, letrina y piso de tierra; 5-Domicilios: 6 pacientes provenían del periurbano de Posadas, de estos 5 pertenecían a barrios carenciados, los 3 restantes a barrios carenciados de las ciudades de Oberá y Apóstoles; 6-Promedio días de estada por paciente: estos pacientes registraron 24 días y medio de internación con variación que va de 3 a 41 días, en un paciente con Meningitis a TBC asociada se registró 120 días de internación. Los cuadros clínicos y aspectos socio-ambientales indican la necesidad de implementar acciones de atención primaria de la salud en la población de riesgo con énfasis en: diagnóstico y tratamiento precoz, educación sanitaria y mejora de la situación económico-social del grupo familiar.

**ME23. Trichostrongyloidiasis familiar en Villa Las Rosas, Córdoba.** M CABRERA, E BELLEGARDE, S CARNEVALE, J LABBE, S OCHOA, E GUARNERA.

ANLIS - Dr. "Carlos G. Malbrán" - INEI - Av. Vélez Sarsfield 563 (1281) Buenos Aires T.E. 301-7437 FAX 303 - 2382 e-mail: parasito@malbra.sld.ar

Son parásitos nematodos que parasitan a los rumiantes, su hábitat natural es la porción anterior del intestino delgado y el abomaso de bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, equinos, asnos y otros que pertenecen a la fauna silvestre. Hasta la fecha se conocen al menos 15 especies, todas ellas propias de los animales. El hombre se infecta excepcionalmente, en las Américas solo se han informado casos humanos en E.E.U.U., Chile, Cuba, Uruguay, Perú y Brasil. El ciclo zoonótico se completa cuando las personas comen vegetales contaminados con heces de animales que contienen larvas pseudofilariformes infectantes que pasan directamente al intestino. Se estudiaron 16 familias que residen en un área endémica de Distomatosis en las Sierras de Córdoba. En 3 personas de una familia de cinco componentes y en 2 de 10 se identificaron huevos de forma elíptica irregular de aproximadamente 70 x 110 mm de largo por 30 mm de ancho, tiene polos y paredes laterales desiguales, una de ellas plana, están rodeados por una cápsula lisa, en el interior se observa un número variable de blastómeros. En el hombre producen una eosinofilia transitoria y ligera anemia. En las parasitaciones intensas hay trastornos digestivos, dolores abdominales y pérdida de peso. Los 5 casos presentaron episodios de diarrea y dolores intestinales periódicos. La presencia familiar de los casos se asocia con la ecología del lugar que muestra numerosos cursos de agua donde crecen los berros y al mismo tiempo defecan los bovinos, caprinos, equinos, y burros que pastan en el lugar. El hábito de comer berros (*Nasturtium officinale*) contaminados con las larvas de *Trichostrongylus* sp. provocan los casos y cierran el ciclo zoonótico local. En ese lugar la tasa de prevalencia entre 89 pobladores fue de 510 x 10.000 hab.

**ME24. Cyclospora cayatanensi, protozoo emergente.** DE RINALDI, C AGUILERA, L CABRERA.

Unidad de Parasitología, Hospital Rawson. Bajada Pucará s/n - Córdoba 5000.

En los últimos años se ha descrito con mayor frecuencia, un síndrome diarreico que involucra a personas inmunocompetentes que habían viajado a países en desarrollo y de climas templados. Como así también personas inmunocomprometidas. En éstos pacientes se puede identificar a un patógeno, que sería un protozoo coccidio perteneciente al género *Cyclospora*. En éste trabajo queremos comunicar el hallazgo de éste patógeno en dos pacientes inmunocomprometidos por el síndrome de Inmunodeficiencia adquirida, ambos pacientes presentan diarreas, anorexia y uno de ellos ser poliparasitados. En ambos se halló un protozoo que se identificó como *Cyclospora cayatanensi* por su gran tamaño y afinidades tintoriales. A pesar de no saber la importancia real, debemos estar prevenidos de su presencia en viajeros con diarrea y pacientes inmunodeprimidos.



## Patogenia: PG

**PG1. Chagas congénito: un caso que deja muchas enseñanzas.** M STREIGER, N BOVERO, R BELTRAMINO, E ARIAS, M DEL BARCO, D FABBRO.

C.I.E.N.-Fac. de Bioquímica y Cs. Biológicas- U.N.L.-Paraje El Pozo- 3000 Santa Fe.

El recién nacido (RN) en un Hospital Público de la ciudad de Santa Fe, entre las 34-36 semanas de gestación con un peso de 2.050 g, presentó hepatoesplenomegalia (HEM) e ictericia leve. La serología en sangre de cordón fue ADs/cME: 512/512, HAI: 1/256, IFI (anti-IgTotal): 1/32. El xenodiagnóstico (Xd), realizado al nacer, en la lectura a los 30 días fue (+). A los 4 meses la serología fue ADs/cME: 256/32, HAI: (-), IFI: (-). A los 7 meses ADs/cME: 1024/64, HAI: 1/32, IFI: 1/64. Se repitió el resultado (+) del Xd. Al año y seis meses nos dio ADs/cME: 4096/4096, HAI: 1/64, IFI: 1/128. Persistió la HEM, cuadros bronquiales y diarreicos. Se detectó déficit nutricional y retardo neurológico. A los dos años ADs/cME: >4096/>4096, HAI: 1/128, IFI: 1/128. Reiteradamente se indicó tratamiento específico. Quizás no lo supimos transmitir o los padres no percibieron su importancia o no tuvieron medios. *Recién a los 2 años fue tratado con benznidazol.* A los tres años ADs/cME: (-/-), HAI: (-), IFI: (-), y Xd (-). \ Negativizó serología y parasitemia, resultados que persistieron durante los controles anuales, hasta los 9 años. *Discusión Serología:* Si bien (+) en sangre de cordón (sin IgM) poco aporta al diagnóstico de infección congénita. La negativización antes de los 6 meses no implica ausencia de infección. Si ésta se produjo tardíamente en la vida IU el bebé no alcanzó a elaborar sus Ac. En este caso, a los 4 meses en forma incipiente y a los 7 en forma más contundente, detectamos IgM específica. *Parasitemia:* es el diagnóstico etiológico indiscutible. En este caso se utilizó el Xd. Por experiencia el método de Strout es más accesible, práctico, rápido y sensible. *Tratamiento específico:* negativiza serología y parasitemia. En este caso se verifica aún al iniciarse a los 2 años, cuando todas las inmunoglobulinas eran IgG. *Clínica:* Cuanto más precozmente se trate, los riesgos clínicos serán menores. En este caso se produjo la "cura" con el tratamiento tripanocida a los 2 años. El niño presentó retardo neurológico, si bien no se puede asegurar asociado a la infección chagásica. *Contexto social:* Además de la rigurosidad metodológica biomédica, es importante el vínculo de comunicación con los padres para que, a pesar de tantas otras necesidades a las que está expuesto este sector social, logren motivarse sobre la importancia del control del RN y su tratamiento si fuera necesario.

**PG2. Relación entre el esfuerzo físico laboral y el desarrollo de cardiopatía en la enfermedad de Chagas.** R STORINO, S AUGER, J FIGAL, M URRUTIA, M JÓRG.

Centro de Enfermedad de Chagas. Fundación INCALP, 56 N° 715, La Plata (1900).

*Objetivo:* Correlacionar el esfuerzo físico laboral con la miocardiopatía chagásica crónica. *Materiales y Métodos:* Se consideraron 138 pacientes (p) chagásicos, divididos en dos grupos (G): GA: Trabajos que demandan gran esfuerzo: construcción, metalúrgico, frigoríficos, etc. GB: Trabajos que demandan poco esfuerzo físico: empleado administrativo, empleado textil, cocinera, etc. A su vez, los pacientes fueron clasificados para evaluar la evolución de su enfermedad en Estadio (E) I: Serología reactiva s/cardiopatía; E II: Cardiopatía s/dilatación y E III: Cardiopatía dilatada. *Método estadístico:* Chi cuadrado. *Resultados:* Sobre 138 p chagásicos, 62 p (45%) pertenecían al GA y 76 p (55%) al GB. La edad promedio era de 38 y 36 años respectivamente. Se observaron los siguientes estadíos por grupo: E I: GA 19 p (31%), GB 32 p (42%); E II: GA 29 p (47%), GB 37 p (49%); E III: GA 14 p (22%), GB 7 p (9%). En el E II se observó una mayor gravedad de las alteraciones electrocardiográficas en GA que en GB. *Conclusiones:* 1) Para grupos etareos similares, se observó una incidencia de cardiopatía dilatada estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en el GA respecto del GB. 2) Si bien en el E II no hay diferencias significativas entre un grupo y otro, se observó una afectación miocárdica de mayor gravedad en el GA. 3) Los resultados demostrarían una relación estrecha entre el trabajo con gran demanda de esfuerzo físico y la cardiopatía chagásica avanzada.

**PG3. Modificación de la actividad de fosfatasa alcalina placentaria humana unida a membrana por acción del *Trypanosoma cruzi*.** MJ SARTORI, S LIN, RE FRETES, L RUIZ MORENO, CG ASTEGGIANO, SP DE FABRO.

Ila Cátedra de Histología, Emb. y Genética e Inst. de Biología Celular. Facultad de Cs. Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Agencia Postal N° 4. Ciudad Universitaria. (5000) Córdoba. Argentina. Subsidado por CONICOR y SECYT (Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba).

Trabajos previos en este laboratorio han demostrado que la actividad de fosfatasa alcalina placentaria (FAP) disminuye en plasma de embarazadas chagásicas y en el medio de cultivo de vellosidades placentarias cocultivadas con *Trypanosoma cruzi*. En el presente trabajo se analizó la actividad de FAP post-interacción plasma de embarazadas chagásicas y normales con *T. cruzi*, y se la comparó con la de medio de co-cultivo, con el objetivo de determinar: si la disminución observada anteriormente es debida a efectos directos del parásito sobre la enzima soluble o adherida a membrana. Se co-cultivaron vellosidades centrales de cotiledones placentarios con  $5.6 \times 10^5$  tripomastigotes en medio M-199 a 37°C durante 24 horas. Se realizaron controles sin *T. cruzi*. Los tripomastigotes utilizados fueron cepa Tulahuen de *T.*



*cruci*, provenientes de sangre de ratones, aislados según De Titto *et al* (1986). Se obtuvo plasma de embarazadas normales y chagásicas por centrifugación a 1000 rpm por 5 minutos. Las interacciones se realizaron colocando 0.5 ml de plasma con  $5.6 \times 10^5$  tripomastigotes en un volumen final de 1.5 ml completado con MEM-199, a 37°C por 1 hora. Además, se efectuaron interacciones con FAP purificada (Sigma) y se controló la ausencia de actividad FAP en MEM-199 con parásito sólo (controles). Posteriormente se analizó la enzima mediante: actividad bioquímica (Messer 1975), zimograma en SDS-PAGE, Western Blot con anticuerpos monoclonales, activación con  $Cl_2Mg$  e inhibición con  $CN^-$ . En las interacciones *T. cruzi* - plasma normal, *T. cruzi* - plasma de embarazada chagásica y *T. cruzi* - FAP purificada la FAP no presenta diferencias con los respectivos controles sin parásito en ninguno de los aspectos analizados. En cambio, en los medios de vellosidades co-cultivadas con parásito, se detecta una disminución del 30% en la actividad bioquímica de FAP, en tanto hay una merma significativa con desaparición de la segunda banda en el patrón de zimograma. No se encuentran diferencias cuando se utiliza el  $Cl_2Mg$  como activador y el  $CN^-$  como inhibidor con respecto a los controles. Estos resultados sugieren que la FAP es alterada por el parásito cuando está unida a la membrana placentaria, en tanto que en su estado soluble no es afectado en estas condiciones.

**PG4. Prevalencia de cardiopatía en pacientes chagásicos s/enfermedades asociadas vs. chagásicos con enfermedades asociadas.** S AUGER, R STORINO, J FIGAL, M URRUTIA, M JÖRG.

Centro de Enfermedad de Chagas. Fundación INCALP, 56 N° 715. La Plata (1900).

**Objetivo:** Establecer si el paciente con serología reactiva para Chagas sumado a enfermedades asociadas tiene mayor predisposición a la cardiopatía. **Material y Métodos:** Se incluyeron 705 pacientes (p) chagásicos. Se consideraron como enfermedades asociadas que podrían tener incidencia a nivel cardíaco: hipertensión arterial (HTA), diabetes, enfermedades pulmonares, disfunción tiroidea, coronariopatías, alcoholismo, la asociación de 2 o más de estas patologías. Los pacientes se agruparon en Grupo (G) I: Serología (+) sin cardiopatía, GII: Cardiopatía sin dilatación y GIII: Cardiopatía dilatada. Se dividieron en grupo (g) A: Chagásicos puros (s/enfermedades asociadas) y gB: Chagásicos con enfermedades asociadas. **Método estadístico:** Chi cuadrado. **Resultados:** Sobre un total de 705 p, 151 pertenecían al gB (21%), con una edad promedio de 53 años. Se observó: HTA 87 p (58%), alcoholismo 19 p (12%), enfermedades pulmonares 12 p (8%), disfunción tiroidea 9 p (6%), coronariopatía 6 p (4%), diabetes 4 p (3%) y dos o más de estas patologías asociadas 14 p (9%). Con respecto al gA, los 554 p (79%) tenían una edad promedio de 50 años. Respecto de los grupos evolutivos observamos lo siguiente: GI: 47 p (31% B)

vs. 219 p (40% A), GII: 57 p (38% B) vs. 195 p (35% A), GIII: 47 p (31% B) vs. 140 p (25% A). Considerando que los G II y III presentan alteraciones, se observaría una presencia de cardiopatía en 104/151 p del gB (69%) vs. 335/554 del gA (60%). **Conclusiones:** 1) Se observó una elevada prevalencia de enfermedades asociadas (21%). 2) La enfermedad que se asoció con mayor frecuencia a la cardiopatía chagásica fue la hipertensión arterial. 3) La cardiopatía se evidenció en un 9% más en los pacientes con enfermedades asociadas respecto a los chagásicos puros, no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos.

**PG5. Extracción y caracterización de células inflamatorias obtenidas de explantes cardíacos de ratas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma cruzi*.** MR ARNAIZ, M POSTAN.

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatale Chaben", Av. Paseo Colon 568, (1063) Buenos Aires.

Se estudió el componente celular inflamatorio de las lesiones cardíacas de ratas Wistar infectadas con el clon de *T. cruzi* Sylvio-X10/4, utilizando una técnica de migración celular de explantes de tejidos *in vitro*. Se extrajeron los corazones de animales infectados y controles, se seccionaron en fragmentos milimétricos y se cultivaron con el agregado de 50U/ml de IL-2 en el medio. Los cultivos fueron evaluados al microscopio de fase durante 30 días para determinar el flujo celular de los fragmentos cardíacos y se tomaron muestras de los tejidos para evaluación histológica. El análisis de los cultivos provenientes de ratas infectadas mostró la migración de células no adherentes, correspondientes morfológicamente a linfocitos activados, entre las 24 y 72 hs. Luego de 72 hs, se detectó la aparición de un número creciente de células adherentes, que por técnicas histoquímicas fueron identificadas como mastocitos. El estudio histológico mostró el desarrollo de fibrosis durante el cultivo y confirmó la presencia de mastocitos en los fragmentos cultivados. El número de células liberadas de los tejidos de ratas no infectadas fue escaso. Varios estudios han demostrado la presencia de mastocitos en el infiltrado inflamatorio del corazón de individuos con miocarditis de variada etiología, incluida la asociada a infección por *T. cruzi*, sugiriendo un potencial rol de los mismos en el desarrollo de estas enfermedades. Dada la relación de los mastocitos con el desarrollo de fibrosis, el sistema *in vitro* descrito podría ser de utilidad para su estudio en la cardiopatía chagásica.

**PG6. Respuesta autoinmune y trastornos cardíacos funcionales inducidos por cruzipaina.** L GIORDANENGO, R CANO, W RIVAROLA\*, D IOSA\*\*, E VOTTERO-CIMA, S GEA.

Dpto Bioq. Clínica, Fac. C. Químicas, UNC; \*Cát. de Física Biomédica, Fac. C. Médicas, UNC; \*\*Centro Privado de Medicina, Córdoba. FAX: 051 334174.



Previamente demostramos que la inmunización de ratones con cruzipaina es capaz de inducir autoanticuerpos contra componentes tisulares de músculo esquelético (ME) y corazón (C) singénico y proliferación de células de bazo contra ME acompañada de alteraciones electromiográficas. El propósito de este trabajo es identificar las moléculas de ME y C que son reconocidas por los sueros anti-cruzipaina, estudiar la reactividad de los mismos contra antígenos de tejido nervioso, investigar la actividad de creatin kinasa (CK) como parámetro bioquímico de daño muscular y evaluar la funcionalidad cardíaca mediante electrocardiograma (ECG). Ratones BALB/c recibieron 3 inmunizaciones *i.d.* con 10 mg de cruzipaina adicionada de CFA (n=5) o con CFA (n=5) como controles. Por western blot frente a extractos de ME y C enriquecidos en miosina, dos antígenos de 62 kDa y 70 kDa en C y otro de 210 kDa en ME fueron reconocidos por los anticuerpos anti-cruzipaina. Sueros inmunes y controles fueron también reactivos por ELISA frente a un extracto salino de nervio ciático de ratón (NC). Se realizaron western blots con NC sin tratar o tratado con metaperiodato de sodio. Se observó que sueros de ratones de ambos grupos mostraron la presencia de 3 bandas de PM entre 70 y 80 kDa en la muestra de NC sin tratar. Con NC tratado, la banda de menor PM fue reconocida sólo por los sueros de ratones inmunes, sugiriendo que los anticuerpos anti-cruzipaina que se unen a NC son dirigidos principalmente contra la parte proteica de dicha molécula. Diez días después de la última inmunización, en sueros de ambos grupos de animales se determinó la actividad de CK (U/L) por espectrofotometría UV. En los animales inmunizados se detectó un incremento significativo respecto de los controles. Los ECG mostraron la presencia de alteraciones marcadas con disminución de la frecuencia cardíaca, trastornos en la conducción intraventricular de moderado a severo y presencia de hemibloqueo anterior. Se concluye que cruzipaina es capaz de inducir fenómenos autoinmunes contra tejido cardíaco y nervioso acompañados de alteraciones en la actividad de CK, y electrocardiográficas indicativas de trastornos cardíacos.

**PG7. La inmunización de ratones BALB/c con el péptido carboxilo terminal de las proteínas ribosomales P de *T. cruzi* (R13) induce respuesta humoral autorreactiva y alteraciones electrocardiográficas.** C MOTRAN, F CERBAN, W RIVAROLA\*, D IOSA\*\*, E VOTTERO-CIMA.

*Dpto. de Bioq. Clín., Fac. de Cs. Quím., U.N.C. Fax # 051-334174. \*Cát. de Física Biomédica, Fac. de Medicina, U.N.C. \*\*Centro Privado de Medicina. Córdoba.*

Previamente demostramos que la inmunización de ratones con R13, el principal epítopo lineal de las proteínas ribosomales P de *T. cruzi*, conjugado OVA es capaz de inducir una importante respuesta inmune humoral específica de los isotipos IgG1 > IgG2 >> IgG3 e IgE y reactiva con autoantígenos de tejido cardíaco. La histología de miocardio fue normal en las condiciones experimentales empleadas. Considerando que la se-

cuencia de R13 es casi idéntica a la secuencia de las proteínas ribosomales P de mamíferos (H13), diferenciándose de éstas por una sustitución de una Ser por un Glu en la posición 11, continuamos este estudio para investigar si la inmunización con R13-OVA es capaz de generar anticuerpos capaces de reconocer H13 y analizar mediante electrocardiograma (ECG) la capacidad funcional del miocardio. Para ello, dos grupos de ratones BALB/c recibieron tres inmunizaciones cada 15 días por vía subcutánea con el antígeno (Inmune (I) = R13-OVA, Control (C) = OVA) emulsionado en AFC. Diez días post tercera inmunización se determinó el título de anticuerpos tipo IgG contra R13 y H13 mediante ELISA utilizando R13-BSA o H13-BSA adsorbido a la placa de poliestireno. El 100% de los animales I presentaron IgG contra R13 en títulos de 1/3200 a 1/12800 mientras que 80% de ellos presentaron IgG contra H13 en títulos de 1/25 a 1/800. Cuando se estudiaron los isotipos de anticuerpos capaces de reconocer H13 se observó un perfil diferente al de los anti-R13 presentando niveles similares de IgG1, IgG2, IgG3 e IgE. El estudio del funcionalismo cardíaco permitió observar que el 100% de los animales I presentaron anomalías electrocardiográficas que consistieron en disminución de la frecuencia cardíaca (bradicardia), incremento en el segmento PQ y disturbios en la conducción intraventricular. Se puede concluir que la inmunización con un péptido de 13 aminoácidos derivado de *T. cruzi* (R13) acoplado a OVA es capaz de romper la tolerancia y/o inducir anticuerpos de reacción cruzada contra el péptido propio (H13) y que la respuesta inmune generada es capaz de alterar el normal funcionalismo cardíaco.

**PG8. Patrones de parasitemia y sobrevida en ratones seleccionados por conformación corporal infectados con *Trypanosoma cruzi*.** P MALFANTE, H MORENO, RJ DI MASSO, S REVELLI.

*Instituto de Inmunología. Instituto de Genética Experimental. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe 3100, (2000) Rosario.*

Se estudió la evolución de la parasitemia y la sobrevida en cuatro genotipos de ratones seleccionados por conformación corporal en el I.G.E. [CBI-: bajo peso, esqueleto corto; CBI+: alto peso, esqueleto largo; CBI/L: bajo peso, esqueleto largo y CBI/C: alto peso, esqueleto corto] y en la línea testigo sin selección (CBI), con el objetivo de determinar si los mismos confieren diferente grado de resistencia ante la infección con un protozoo de relevancia en la patología humana como el *T. cruzi*. 12 ratones de cada genotipo (6 machos y 6 hembras), de 100 días de edad, recibieron por vía subcutánea 100 *T. cruzi* (10 *T. cruzi*: 100% de sobrevida, 1000 *T. cruzi*: 100% de mortalidad), cepa Tulahuén. La parasitemia se determinó semanalmente hasta su negativización. No se observaron diferencias significativas en el nivel de parasitemia entre sexos, dentro de genotipo. Con respecto a la sobrevida sólo CBI/L mostró diferencias en-



tre sexos (supervivencia: (fem.) 6/6, (masc.) 1/6,  $p < 0.02$ ). Las hembras de este genotipo fueron las únicas que sobrevivieron al finalizar el ensayo (60 días). La relación parasitemia (mediana y rango) - sobrevida mostró diferentes comportamientos: 1)- mortalidad en el pico de alta parasitemia [CBI: pico día 28, 1695 (144-2101)] 2)- mortalidad posterior al pico de alta parasitemia [CBI: pico día 28, 1357 (90-2703); muerte día 42, 180 (32-327)] 3)- mortalidad temprana (21-28 días) con baja parasitemia [CBI/C: 62 (4-230) y CBI+: 139 (7-721)], 4)- mortalidad tardía (día 42) con baja parasitemia [(masc.) CBI/L: 43 (4-284)] y 5)- sin mortalidad, baja parasitemia [(fem.) CBI/L: sobrevida 6/6]. Los resultados ponen en evidencia diferencias genéticas en la respuesta a la infección, la ausencia de un efecto del sexo sobre los niveles de parasitemia, una interacción genotipo x sexo en relación con la sobrevida (en CBI/L sobreviven las hembras y mueren los machos; en el resto de los genotipos la mortalidad fue similar en ambos sexos) y la falta de relación entre los niveles de parasitemia y la sobrevida. El comportamiento diferencial del genotipo CBI/L, en relación a los genotipos restantes, frente a la infección con *T. cruzi* también se ha constatado en estudios de respuesta inmune frente a glóbulos rojos de carnero, ante un linfoma transplantable y en infecciones experimentales con nematodos intestinales (*Heligmosomoides polygyrus*).

**PG9. Anticuerpos contra las proteínas ribosomales P estimulan al receptor  $\beta$  adrenérgico en enfermedad de Chagas pero no en Lupus Eritematoso Sistémico.** I FERRARI, E MAHLER, D KAPLAN, P LOPEZ BERGAMI, F QUINTANA, S GHIO, G LEVITUS, PA CHIALE, J HOEBEKE, MHV VAN REGENMORTEL, MJ LEVIN.

Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGBI-CONICET. Div. Cardiología, Hospital Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina.

En la búsqueda de marcadores serológicos de daño miocárdico activo en la enfermedad de Chagas crónica (EChC), describimos anticuerpos (Ac) contra la región carboxy terminal (Cter) de las proteínas ribosomales P (prP) de *Trypanosoma cruzi* en pacientes (p) con evidencias histológicas de miocarditis. Los epitopes B y el efecto funcional de esos Ac eran desconocidos. En este estudio realizamos el mapeo epitópico de los Ac anti P de 25 pacientes con EChC y de 12 con lupus eritematoso sistémico (LES) y evaluamos su efecto funcional.

Los anticuerpos anti P de p chagásicos reconocen preferencialmente las prP del parásito y el péptido Cter correspondiente, R13 (EEEDDDMGFLFD). En cambio, los Ac anti P de p con LES reaccionaron de igual modo las prP humanas y del parásito, y los péptidos Cter respectivos H13 (EESDDDMGFLFD) y R13. La constante de afinidad de anticuerpos anti P inmunopurificados de p con EChC fue cinco veces mayor para R13 que para H13. Estos péptidos presentan una región polianiónica homóloga a otro epítipo B (P0 $\beta$ : AESEE) de la región Cter de la prP0 de *T. cruzi*. P0 $\beta$  genera Ac que reac-

cionan en forma cruzada con la secuencia AESDE de la segunda asa extracelular (H26R) del receptor cardíaco  $\beta$ 1 adrenérgico. Por inhibiciones inmunoenzimáticas se demostró que los Ac anti R13 de los p con EChC reconocen la porción ácida, homóloga a P0 $\beta$ , de los péptidos H13 y H26R. Los Ac anti R13 purificados de p con EChC indujeron un efecto cronotrópico positivo en cultivo de cardiomiocitos, semejante al efecto causado por Ac anti  $\beta$ 1 aislado a partir del suero del mismo p. Dicho efecto puede ser inhibido por los péptidos R13, P0 $\beta$  y H26R y por el bisoprolol. Por el contrario los autoAc anti P de p con LES no presentaron de actividad funcional. Los Ac anti P, a través de su efecto estimulante adrenérgico, podrían participar en la patogenia de algunas manifestaciones de la cardiomiopatía chagásica crónica, en particular, en las arritmias ventriculares.

**PG10. Anticuerpos con efecto estimulante colinérgico en la disfunción del nódulo sinusal chagásica e idiopática.** E MAHLER, I FERRARI, MV ELIZARI, MB ROSENBAUM, PA CHIALE, MJ LEVIN.

Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGBI-CONICET. Div. Cardiología, Hospital Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina.

En la patogenesis de diversas enfermedades intervienen anticuerpos (Ac) dirigidos contra receptores de la membrana celular. Como el suero de pacientes (p) con disfunción de nódulo sinusal (DNS) puede reaccionar con la membrana del tejido de conducción humano, se sugirió que el NS podía ser blanco de un ataque autoinmune. El objetivo del estudio fue evaluar en forma comparativa la prevalencia de Ac con efecto estimulante colinérgico en p con DNS y con función del nódulo sinusal normal (FNSN). Se incluyeron 26 p que fueron divididos en dos grupos: I, con DNS (9 p; 7 con enfermedad de Chagas crónica (EChC) y 2 idiopáticas (I) y II, con FNSN (17 p; 7 con EChC, 5 con cardiopatía dilatada idiopática (CDI) y 5 controles sanos (CS). Se aisló la fracción IgG del suero y se estudió su actividad cronotrópica (antes y después del agregado de atropina) en cultivo de cardiomiocitos de ratas neonatas. Se consideró que la IgG contenía Ac con efecto estimulante colinérgico cuando produjo un efecto cronotrópico negativo significativo suprimible por la atropina. La prevalencia de Ac con este efecto fue significativamente mayor en los p con DNS, como se observa en la tabla.

Grupos	Num. de p	Num. de p con Ac estimulantes colinérgicos
I: DNS	9	7 (77.7%)
EChC	7	5
I	2	2
II: FNSN	17	2 (11.7%)
EChC	7	1
CDI	5	0
CS	5	1



Estos hallazgos muestran por primera vez una vinculación entre la DNS chagásica e idiopática y los Ac con efecto estimulante de receptores colinérgicos. Estos Ac podrían participar en la fisiopatología de la DNS a través de su efecto depresor de la actividad del nódulo sinusal.

**PG11. Amplificación de ADN de *Trypanosoma cruzi* en áreas de miocarditis de necropsias cardíacas de pacientes chagásicos crónicos con arritmias ventriculares.** S BRANDARIZ, C VIGLIANO, A SCHIJMAN, R VIOTTI, B LOCOCO, M LEZE, A ARMENTI, MJ LEVIN.

*Sección Chagas, Servicio de Cardiología, Hospital Eva Perón, San Martín, Bs. As. Instituto de Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI). Bs. As. Argentina.*

Un grupo de riesgo particular de pacientes con cardiopatía chagásica crónica es el de aquellos con arritmias ventriculares complejas (AVC) (extrasistolia ventricular<sup>3</sup> grado 3 de Lown). Estudios histopatológicos de corazones de estos pacientes revelan infiltrados mononucleares, daño miocítico y fibrosis, pero rara vez se hallan nidos de amastigotes en los focos con miocarditis. El objetivo de este trabajo fue aplicar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para evaluar la presencia de ADN de *T. cruzi* en áreas de miocarditis de necropsias de pacientes con CChc y AVC. Se analizó material parafinado de autopsia cardíaca de seis pacientes refractarios al tratamiento antiarrítmico que no recibieron drogas tripanocidas. El estudio de corazones reveló áreas de miocarditis severa difusa de las cuales se usaron secciones de 10 micrones. Se incluyeron dos casos control (CT) de muestras de áreas sin miocarditis de pacientes chagásicos fallecidos por causas ajenas a la cardiopatía, y un control con cardiomiopatía dilatada de etiología alcohólica. La extracción de ADN se realizó según Brandariz y col, THE LANCET, 346, 1370-1371, 1995. La PCR consistió en 40 ciclos de 94°C 1min, 53°C 1 min y 72°C 2 min. con primers S35 y S36 que amplifican un fragmento de 330 pb de minicirulos de *T. cruzi*, visualizado por electroforesis en gel y confirmado por Southern blot. La PCR logró detectar ADN de *T. cruzi* específicamente en las muestras parafinadas de los 6 pacientes con cChc y AVC y no en los controles de pacientes chagásicos sin miocarditis. Estos resultados sugieren el rol del parásito en la producción de las lesiones inflamatorias en la cardiopatía chagásica crónica encontrada en este grupo de pacientes con arritmias ventriculares, refractarias al tratamiento antiarrítmico convencional.

**PG12. Coinfección de *Septata intestinalis* y *Enterocytozoon bienewisi* en un paciente con SIDA.** JN VELASQUEZ, H BESSASO, JP BOZZINI, M MARIANO, A CHERTCOFF, S CARNEVALE, J LABBE, LH KUO, M CORTI.

*Hospital "Dr. José María Penna". Servicio de Microscopía Electrónica, Instituto Nacional de*

*Microbiología "Dr. Carlos G. Malbrán". Hospital de Infecciosas "Dr. Francisco J. Muñiz". Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA*

El propósito de este trabajo es la descripción de las manifestaciones clínicas y microbiológicas de Microsporidiosis por *Enterocytozoon bienewisi* y *Septata intestinalis* en un paciente con SIDA y diarrea crónica. La población estudiada incluyó a 98 pacientes adultos con SIDA y criterios de diarrea crónica. Las materias fecales se procesaron mediante la técnica de concentración de Merthiolate-formol y formol 5%. Los extendidos de los concentrados fueron coloreados con las técnicas de Kinjoun y Tricromo azul. A cada paciente se le efectuó una videoesofagogastroduodenoscopia (VEDA). Se tomaron biopsias de la porción distal del duodeno. Tres biopsias duodenales fueron fijadas con formol y coloreadas con hematoxilina-eosina, Giemsa y PAS. Tres se fijaron en glutaraldehído y se colorearon con Azur II. La imagen duodenal patológica en la VEDA se clasificó en granular, jaspeado y atrófico. Los casos sugestivos de Microsporidiosis se procesaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM). La identificación de especies de microsporidiosis se efectuó por PCR utilizando primers específicos en muestras de ADN extraído de biopsias embebidas en parafina. Con estos métodos se detectaron 8 pacientes con Microsporidiosis intestinal y sólo un caso con ambas especies. La edad de este paciente fue de 23 años, de sexo masculino. El valor de los linfocitos CD4 fue < 200/mm<sup>3</sup>. La VEDA mostró duodeno granular. Los microsporidiosis fueron observados en las secciones histológicas. Las especies, *Enterocytozoon bienewisi* y *Septata intestinalis*, fueron confirmadas por amplificación génica. Recibió tratamiento con albendazol durante 20 días con evolución favorable. La Microsporidiosis intestinal es una causa de diarrea crónica en pacientes con SIDA en nuestro medio, como sucede en otras partes del mundo, pero son poco frecuentes las infecciones mixtas. La identificación de especies es importante para el pronóstico siendo las técnicas de biología molecular una herramienta útil para tal fin.

**PG13. Efecto del tratamiento con drogas tripanocidas sobre la incidencia de anticuerpos antiglicolipídicos de músculo esquelético humano en pacientes infectados con *Trypanosoma cruzi*.** M STREIGER, D FABBRO, MI ARGEL, J CHAMBO, M DEL BARCO, E ARIAS, PM CABEZA MECKERT Y RP LAGUENS.

*C.I.E.N, Fac. de Bioq. Y C. Biol. UN del Litoral, Paraje El Pozo, CC530, Santa Fe, CIC Pcia de Buenos Aires e ICYCC, Fund. Favaloro, Buenos Aires.*

En un trabajo anterior se describió en el suero de individuos infectados crónicamente con *T. cruzi* un anticuerpo que reconoce antígenos glicolipídicos de músculo cardíaco y esquelético humano (AAG), cuyo título aparecía significativamente aumentado en los pacientes con cardiopatía chagásica (Canad J Cardiol 10:769,



1994). En el presente trabajo se describe el efecto del tratamiento antiparasitario sobre la incidencia de títulos elevados de AAG en muestras obtenidas entre 6 y 17 años después del tratamiento. Se estudiaron 43 pacientes de los cuales 21 recibieron tratamiento con Benzimidazol o Nifurtimox, 10 en la infancia y 11 cuando adultos. El valor de los AAG se determinó por ELISA y se expresó como la relación entre la DO de los sueros de los pacientes y la DO promedio de 15 sueros normales de donadores de banco de sangre, estableciéndose en 0.800 el valor positivo sobre la base de una curva ROC. Los resultados de la incidencia de  $AAG \geq 0.800$  en los diferentes grupos fue la siguiente: Adultos tratados ( $n=15$ ): 53.33%, Adultos no tratados ( $n=7$ ): 47.14%, niños no tratados ( $n=11$ ): 45.45%, niños tratados ( $n=10$ ): 20% ( $p < 0.05$  respecto a los tres restantes grupos). Estos resultados indican que el tratamiento con drogas tripanocidas en la infancia disminuye a largo plazo la incidencia de títulos elevados de AAG, fenómeno que no ocurre cuando el tratamiento se realiza en la edad adulta, y sugieren que los títulos elevados de AAG podrían estar vinculados con la persistencia de infección y de lesión cardíaca.

**PG14. Núcleos en oruga (caterpillar) y grado de ploidía de los miocitos cardíacos en la miocarditis murina chagásica experimental.** H GARCIA RIVELLO, P CABEZA MECKERT, R LAGUENS.

CIC Pcia. de Buenos Aires e ICYCC, Fundación Favaloro, Belgrano 1746, Buenos Aires.

Los núcleos en oruga (Caterpillar) representan una distribución especial de la cromatina como gránulos o acúmulos condensados en un filamento único ubicado a lo largo del eje mayor del núcleo. Esta morfología se observa tanto en miocitos como en células intersticiales de corazones fetales y neonatales, en tanto que esta ausente en corazones adultos, razón por la que se cree que esta vinculada con la replicación nuclear. La miocarditis de ratones adultos causada por la infección con *T. cruzi* presenta numerosos miocitos con núcleos en oruga ubicados en la vecindad de las lesiones inflamatorias, representando un modelo útil para estudiar el significado de esta variación de la morfología nuclear. En la presente comunicación se describe el grado de ploidía de los núcleos en oruga en corazones murinos con miocarditis chagásica. En ratones BALB/c infectados tres meses antes con la cepa CA1 de *T. cruzi* se estudió el grado de ploidía de los miocitos cardíacos en cortes histológicos coloreados con el método de Feulgen por medio de densitometría con un analizador de imágenes. En ratones controles no infectados ( $n=5$ ) la mayoría de los miocitos eran 2c ( $80.71 \pm 4.8\text{DS}\%$ ) con una pequeña proporción de 4c ( $14.67 \pm 5.6\text{DS}\%$ ) y 8c ( $6.06 \pm 11.72\text{DS}\%$ ). En las áreas libres de inflamación del ventrículo izquierdo de los ratones chagásicos ( $n=6$ ) se observó un aumento significativo de la proporción de miocitos 4c ( $23.36 \pm 2.7\text{DS}\%$ ) y 8c ( $13 \pm 7.6\text{DS}\%$ ). El análisis individual de los núcleos

en oruga mostró que todos eran 4c ( $45.32 \pm 30.14\text{DS}\%$ ) u 8c ( $45.32 \pm 30.96\text{DS}\%$ ). Estos resultados indican que en la miocarditis chagásica crónica experimental existe un aumento de la ploidía miocítica y que los núcleos en oruga son siempre poliploides, lo que sugiere que esta modificación está vinculada con un aumento del ADN nuclear y con la replicación celular y que la miocarditis induce remodelación miocítica.

## Protozoos: PR

**PR1. Comparación de fracciones proteicas de medios de cultivos líquidos con y sin *Trichomonas vaginalis*.** R COSTAMAGNA, G NIIZAWA, G BALOGH.

Cátedra de Parasitología Clínica. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670. (8000) Bahía Blanca.

Teniendo en cuenta que la *Trichomonas vaginalis* (Donné, 1837) no logra mantenerse viable durante mucho tiempo en los medios de cultivo líquidos, y que necesita nutrientes muy seleccionados ya que ella no es capaz de sintetizar la totalidad de las proteínas necesarias para sobrevivir, es que se procedió a comparar la composición proteica de cultivos líquidos con y sin *T. vaginalis*. Exudados vaginales, de mujeres entre 15 y 40 años con Trichomonosis activa, fueron inoculados en medio de cultivo Diamond (Menarini. cod. Tric 20. Ref. 1038. Barcelona-España). Se seleccionan seis cultivos positivos. Además, dos cultivos positivos para *T. vaginalis* que presentaban también desarrollo de elementos levaduriformes y un tubo de medio de cultivo sin exudado vaginal. Todos los cultivos son incubados 72 horas a 37 grados centígrados. Luego todas las muestras fueron concentradas por centrifugación. Se preparan tres lotes de muestras: uno con *T. vaginalis*, otro con este flagelado más elementos levaduriformes y un tercero con medio de cultivo solo. Se procede luego a la sonicación y dosaje de su contenido proteico por método de Lowry. Luego se efectúa corrida electroforética en gel de poliacrilamida (PAGE). Del análisis de los resultados pudo observarse que en las bandas correspondientes a las muestras con *T. vaginalis* las proteínas de P.M. entre 14-60 kDa habían disminuido prácticamente un 100% respecto de los testigos (medio de cultivo solamente); estas proteínas podrían haber sido consumidas por el parásito, lo que explicaría el decaimiento de la curva de crecimiento a las 48-72 hs. en medios de cultivo, por lo cual sería recomendable suplementar el medio aumentando la concentración de estas proteínas. También se observó que en estos cultivos positivos aparecían proteínas de P.M. aproximado entre 55-58 kDa, y donde había desarrollo de elementos levaduriformes también aparecían bandas correspondientes a 63 kDa; en ambos casos podrían ser propias o metabolitos excretados por el flagelado en el primer caso o por las levaduras en el segundo.



- PR2. *Trypanosoma cruzi*: activación de la proteína quinasa C en epimastigotes estimulados con factores metacíclicos.** MJ WAINSZELBAUM<sup>1</sup>, EM LAMMEL<sup>1</sup>, MT TÉLLEZ-IÑÓN<sup>2</sup>, ELD ISOLA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dpto de Microbiología Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, 1121 Buenos Aires. <sup>2</sup> Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI), Obligado 2490, 1428 Buenos Aires.

Estudios preliminares mostraron que el homogenato de intestino de *Triatoma infestans* (HI) y un péptido aislado a partir del mismo estimulan la diferenciación epimastigote-metacíclico (epi-mtc). La adición de dos inhibidores de proteínas kinasas: Staurosporina y H7, produjo una inhibición parcial de la metaciclogénesis y el tratamiento de los epi con phorbol y diacil glicerol más fosfatidil serina, activadores de la proteína quinasa C (PKC), indujo la morfogénesis. Estos resultados sugieren una relación entre activación de PKC y diferenciación. El objetivo de este trabajo fue confirmar la activación de la PKC de los parásitos por un péptido de 19 aminoácidos (P19), derivado de la  $\alpha^D$  globina de gallina la cual está presente en el HI. Para ello, epi (cepa RA) previamente estimulados con el P19 (10  $\mu$ M, 15 min) y epi no estimulados (basal) fueron sometidos a ruptura obteniéndose finalmente en cada caso una fracción citosólica y otra de membrana, las cuales se sembraron en una columna de DEAE-celulosa (Gómez et al., 1989. Mol. Biochem. Parasitol., 36:101-108). En las muestras obtenidas por elución con NaCl (0,15 M) se midió la actividad específica de PKC (Ae/ml<sup>-1</sup>/mg<sup>-1</sup>) utilizando un sustrato específico derivado de la neurogranina. Los resultados mostraron en epi estimulados un aumento de la actividad específica de la enzima de 27.6 veces en la fracción citosólica y de 14.5 veces en la fracción de membrana respecto a los valores basales. Por otra parte, se evaluó la actividad biológica de los inhibidores selectivos de PKC Bisindolil maleimida (15 mM) y H7 (6  $\mu$ M)+HA 1004 (10  $\mu$ M), observándose una inhibición de la metaciclogénesis de 40% y 80% respectivamente. Estos resultados confirman la activación de la PKC en el proceso de morfogénesis y sugieren que un péptido derivado del HI intervendría en las vías de activación de dicha enzima. *Este proyecto fue realizado con fondos de UBA y UNDP/WORLD BANK/WHO-TDR.*

- PR3. Purificación y caracterización del oligosacárido presente en un antígeno urinario de *Trypanosoma cruzi*.** GM BERTOT<sup>1</sup>, AS COUTO<sup>2</sup>, RM DE LEDERKREMER<sup>2</sup>, S GRINSTEIN<sup>1</sup>, RS CORRAL<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Virología, Hospital de Niños R. Gutiérrez, Gallo 1330, (1425) Buenos Aires y <sup>2</sup> Depto. de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Pabellón 2, (1428) Buenos Aires.

Se ha identificado un antígeno urinario de *Trypanosoma cruzi* de 80 kilodaltons (Uag) eliminado durante la fase aguda de la infección, de naturaleza glicoproteica y relacionado estructural y funcionalmente con transferrina. Con el propósito de estudiar la fracción glicosídica del Uag, el antígeno fue digerido con N-glicosidasa F o endoglicosidasa F y posteriormente, se purificó el oligosacárido por cromatografía de exclusión molecular. El análisis de la composición de azúcares por cromatografía en fase líquida-gaseosa, así como también su liberación con enzimas específicas, permiten sugerir una estructura lactosamina de tipo complejo, con presencia de ácido siálico y ausencia de fucosa. Asimismo, el oligosacárido fue digerido secuencialmente con exoglicosidasas y analizado por cromatografía de intercambio aniónico a alto pH (Dionex). Dos estructuras diferentes, una de las cuales resulta similar a la descripta previamente para la transferrina humana, fueron observadas. Por otra parte, anticuerpos monoclonales dirigidos contra Uag y capaces de distinguir a éste de las transferrinas, no reconocen por dot blotting o ELISA al antígeno deglicosilado ni tampoco al antígeno desnaturado por SDS-PAGE y Western blotting. Así, se puede asignar al oligosacárido del antígeno urinario de *T. cruzi* un rol importante en la conformación molecular del Uag, capaz de modular su antigenicidad.

- PR4. Mapeo del genoma del *Trypanosoma cruzi*.** J BUA, J HOHEISEL, BM PORCEL, AM RUIZ.

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. M. Fatale Chabén" Paseo Colón 568, Buenos Aires y Deutsches Krebsforschungszentrum, Im Neuenheimer Feld 280, Heidelberg, Alemania.

El proyecto de estudio del genoma del *Trypanosoma cruzi* lanzado por el Programa de Investigación y Entrenamiento en Enfermedades Tropicales (TDR) de la Organización Mundial de la Salud tiene como principal objetivo el secuenciamiento completo del mismo, permitiendo conocer la estructura de las moléculas que utiliza el parásito para establecer la infección y por lo tanto, identificar posibles blancos de ataque para su destrucción. Dentro del marco de este proyecto, nuestro laboratorio inició la construcción del mapa físico del genoma mediante la hibridación de filtros con una grilla de alta densidad donde sembró clones de una genoteca de cósmidos de la cepa de referencia CL Brener. Esta genoteca consta de 36.864 clones primarios individuales, cubriendo unos 25 equivalentes genómicos del parásito (Hanke et al. Biotechniques 21: 686, 1996). El objetivo del trabajo es ordenar la genoteca de cósmidos en un mínimo conjunto de clones que superpongan secuencias de ADN ("contigs") para obtener un mapa de alta resolución que permita la localización física de marcadores genéticos. Para ello, 1100 hibridaciones serán necesarias para obtener un mapa genético del parásito. Hasta ahora se realizaron 70 hibridaciones con pools de 12 y de 24 clones de cósmidos y unas 200 hibridaciones con clones de ADNc amplificados por PCR. Las hibridaciones con clones de



ADNc muestran una disminución del ruido de fondo respecto de los cósmidos marcados. Los resultados han sido leídos manualmente. Los clones positivos se analizaron por programas específicos para el análisis de genomas y procesados en una estación SUN SPARC-II. El ordenamiento de la genoteca de cósmidos de *T. cruzi* es una importante base para los proyectos de secuenciación del genoma del parásito, generando información crucial para el desarrollo de drogas tripanocidas, inmunoterapéuticas y herramientas de diagnóstico para la enfermedad de Chagas. Este trabajo recibió financiación del MSyAS de Argentina, de la RTPD network (SIDA/SAREC) y del TDR, WHO.

**PR5. Ácidos grasos libres y metaciclógenesis en *Trypanosoma cruzi*.** M WAINSELBAUM<sup>1</sup>, M FLORIN-CHRISTENSEN<sup>2</sup>, E LAMMEL<sup>1</sup>, S WILKOWSKY<sup>1</sup>, R DOCAMPO<sup>3</sup>, ED ISOLA<sup>1</sup>, J FLORIN-CHRISTENSEN<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Dpto. de Microbiología Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, 1121 Buenos Aires. <sup>2</sup> Instituto de Neurociencia (INEUCI), Ciudad Universitaria, Pab. II, 1428 Buenos Aires. <sup>3</sup> Laboratorio de Parasitología Molecular, Universidad de Illinois, Urbana, USA

Se ha demostrado que extractos intestinales del insecto hematófago *Triatoma infestans* estimulan la diferenciación de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* a tripomastigotes metacíclicos. Se ha aislado de esta fuente un fragmento de la  $\alpha^D$  globina de pollo que posee actividad metaciclógena. En estudios anteriores, hemos hallado que la exposición de epimastigotes a los extractos intestinales provoca un incremento en el contenido de diacilglicerol y ácido graso libre. En el presente estudio, hemos observado que la exposición a un péptido sintético con la secuencia correspondiente a los aminoácidos 30 a 49 de la  $\alpha^D$  globina, que posee actividad metaciclógena ( $\alpha^D$ -globin synthetic factor,  $\alpha^D$ -GSF) induce un notable aumento en la fracción de ácidos grasos libres, sin alterar significativamente el contenido de diacilglicerol. Los epimastigotes fueron cultivados en medio bifásico por 48 hs, resuspendidos en PBS + 1% soroalbúmina bovina con el agregado de 4 uCi [<sup>14</sup>C]oleico/10<sup>9</sup> células. Al cabo de 24 hs a 28°C, los parásitos fueron transferidos a medio de Grace (control) o medio de Grace suplementado con 1 a 10 uM de  $\alpha^D$ -GSF. Luego de 5 min de incubación, los lípidos celulares fueron extraídos y analizados por TLC. Se encontró un aumento en el contenido de ácidos grasos de 1.5 a 3 veces sobre el control, dependiente de la dosis de péptido. Asimismo, se halló que concomitantemente, se produce un marcado incremento de lisofosfatidiletanolamina. Estos resultados sugieren que el  $\alpha^D$ -GSF estimula a una fosfolipasa de tipo A que actúa sobre la fosfatidiletanolamina, un fosfolípido mayoritario en los parásitos. Por otra parte, se encontró que el ácido oleico per se posee actividad metaciclógena. Nuestros resultados indican que los ácidos grasos libres son una señal fisiológica importante en la diferenciación de

*Trypanosoma cruzi*. Este proyecto fue realizado con fondos de UBA y UNDP/WORLD BANK/WHO-TDR.

**PR6. Influencia del Atovaquone sobre el crecimiento y contenido de nucleótidos de adenina en *Crithidia fasciculata*.** AM BISCARDI, EM de PAHN, AOM STOPPANI.

Centro de Investigaciones Bioenergéticas, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, (1121) Buenos Aires, Argentina.

Atovaquone (ATQ) es una naftoquinona que actúa en tripanosomátidos inhibiendo el sistema de transporte de electrones mitocondrial, sin afectar al huésped, a la altura del complejo citocromo bc<sub>1</sub> (complejo III), por ser un antagonista de la ubiquinona. ATQ inhibe la enzima dehidro-orotato dehidrogenasa, bloqueando la biosíntesis de pirimidina, que no puede ser sintetizada «de novo» por el parásito y sí por el huésped. Se estudió la inhibición del crecimiento por ATQ en *Crithidia fasciculata* (cepa ATCC 11745), un tripanosomátido de la familia del *Trypanosoma cruzi*, no patógeno para el hombre. Alícuotas de un precultivo se inocularon en el medio de cultivo, previo agregado de ATQ en concentraciones de 0.46 a 6.5  $\mu$ M y se cultivaron 48 hs a 28°C con agitación. El crecimiento de los parásitos se determinó por turbidimetría. Se observó que el ATQ a estas concentraciones inhibió el crecimiento en forma pareja ( $81.9 \pm 7.6\%$ ). El contenido de nucleótidos de adenina se determinó por el método de la luciferina-luciferasa. Cultivos de 48 hs de crecimiento se incubaron hasta 4 hs con ATQ 0.5 y 3  $\mu$ M. El ATP descendió significativamente a las 4 hs con ATQ 3 mM (55%), no modificándose el ADP y aumentando el AMP (75%). El agregado de glucosa o glutamato (5 mM) al medio de incubación previene la caída de ATP producida por ATQ, siendo más efectiva la glucosa. Se concluye que directamente o por intermedio de «oxígeno activo» formado como consecuencia de ciclos redox, el ATQ produce una acción citotóxica expresada por una menor formación de ATP.

**PR7. Actividad poli (ADP-ribosa) polimerasa en núcleos de *Crithidia fasciculata*.** SH FERNANDEZ VILLAMIL, MP MOLINA PORTELA, AOM STOPPANI.

Centro de Investigaciones Bioenergéticas, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Paraguay 2155, (1121) Buenos Aires, Argentina.

La ADP-ribosilación de proteínas es una modificación postraducciona involucrada en numerosas funciones celulares. La poli(ADP-ribosa)polimerasa (PARP) es una enzima nuclear que cataliza la transferencia de unidades de ADP-ribosa desde el NAD<sup>+</sup> a proteínas nucleares bajo el estímulo de rupturas en el ADN y, estaría involucrada tanto en la diferenciación y transformación celular, como en la reparación del ADN. Isola y col. (Exp. Parasitol. 64:424-429, 1987) han sugerido la participación de esta enzima en la diferenciación del *Trypanosoma cruzi*. El objetivo de este trabajo ha sido



determinar y caracterizar la actividad PARP en núcleos aislados de tripanosomátidos. Se aislaron núcleos de *Crithidia fasciculata* según Rubio y col. (Can. J. Biochem. 58:1247-1251, 1980) y se determinó la actividad PARP por la incorporación de  $^3\text{H}$  a proteínas precipitables con ácido tricloroacético utilizando  $^3\text{H-NAD}^+$  (Shah y col. Anal. Biochem. 227:1-13, 1995). Los resultados obtenidos muestran que: a) la incorporación de  $^3\text{H}$  a proteínas fue proporcional hasta 1 mg de proteína nuclear. b) nicotinamida (10 mM), teofilina (10 mM) y 3-aminobenzamida (10 mM) inhibieron la actividad PARP 88, 90 y 99% respectivamente. c) la espermina en concentraciones hasta 1 mM estimuló la actividad PARP, mientras que a concentraciones mayores se observó inhibición de dicha actividad. d) la nicotinamida (10 mM) anuló el estímulo producido por espermina 1 mM. Los resultados obtenidos demuestran que la actividad PARP de *C. fasciculata* presentó características similares a las observadas en PARP de mamífero.

**PR8. Actividad de Anhidrasa Carbónica en *Toxoplasma gondii*.** V PSZENNY, G PEREDA, E BONTEMPI, S ANGEL, M MATRAJT, E GUARNERA, JC GARBERI.

ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Vélez Sarsfield 563, (1281), Buenos Aires.

*Toxoplasma gondii*, un protozoo parásito estrictamente intracelular, tiene la habilidad de inhibir la acidificación del fagosoma y bloquear su posterior fusión con el lisosoma. Los mecanismos por los cuales esto ocurre aún se desconocen. En este trabajo se describe la presencia de antígenos de taquizoítos de *T. gondii* con actividad de anhidrasa carbónica. Esta enzima de conocida participación en la regulación del pH en una variedad de organismos, podría jugar un rol importante en el establecimiento de los taquizoítos dentro de la vacuola parasitófora. Utilizando Azul de Bromotimol como indicador de pH, hemos detectado actividad enzimática en geles de poliacrilamida. Extractos parasitarios totales presentan tres bandas de actividad enzimática cuyos pesos moleculares aparentes fueron de 68, 66 y 64 kD, mientras que extractos de antígenos secretados-excretados (fracción ESA) muestran actividad enzimática en bandas de 68, 66, 15 y 13 kD. En experimentos de inmunoblot de extractos parasitarios totales un anticuerpo policlonal anti-anhidrasa carbónica II bovina hecho en ratón, reaccionó con tres bandas de peso molecular aparente de 66, 64 y 32 kD, mientras que en la fracción ESA cuatro bandas de 66, 32, 15 y 13 kD presentaron reactividad inmunológica. Experimentos de inmunofluorescencia sobre extendidos de taquizoítos provenientes de exudado peritoneal con el anticuerpo policlonal anti-anhidrasa carbónica II bovina mostraron una fuerte marcación en el extremo anterior del parásito. Estos resultados en conjunto revelan la presencia de una proteína con actividad de anhidrasa carbónica en *T. gondii* no descripta hasta el momento. La caracterización de esta nueva enzima y futuros estudios sobre su rol biológico podrían permitir

el diseño de inhibidores específicos con fines terapéuticos.

**PR9. Antigenicidad de la proteína Rop 2 de *Toxoplasma gondii* expresada en *Escherichia coli*.** V MARTIN, P ECHEVERRIA, G SANTILLAN, G CESPEDES, M MATRAJT, V PSZENNY, JC GARBERI, E GUARNERA, S ANGEL.

ANLIS-Dr. Carlos G. Malbrán, Av. Vélez Sarsfield 563, 1281, Buenos Aires.

Rop 2 es una proteína ubicada en la roptria de *T. gondii*, de la cual se demostró que es capaz de inducir inmunidad celular T-dependiente contra el parásito. A pesar de que un cDNA que codifica para Rop 2 fue detectado por rastreo inmunológico utilizando un pool de sueros humanos de personas con infección crónica de *T. gondii*, muy poco se ha estudiado sobre su valor antigénico frente a la respuesta humoral. Con dicho propósito, se clonó una región del gen Rop 2, excluyendo los sitios de clivaje de la proteína original, en el vector de expresión bacteriano pQE a partir de un plásmido recombinante cedido por K. Joiner (Universidad de Yale, USA). De esa manera, Rop 2 se expresa en *E. Coli* como una proteína de fusión Rop2<sub>196-561</sub> mas 6 residuos de histidina en la región aminoterminal para su purificación con resinas de níquel. La proteína de fusión pudo ser producida en grandes cantidades dentro de la hora de inducción con IPTG, presentando un tamaño aproximado de 42 kDa por electroforesis en poliacrilamida en condiciones reductoras. Cinco sueros humanos con títulos de IgG anti-*T. gondii* entre 256-1024 e IgM negativos reaccionaron contra la proteína de fusión por Western blot. El suero control no reaccionó en el mismo ensayo. Rop 2 pareciera estimular una fuerte respuesta humoral en el paciente con infección crónica. La proteína de fusión pQE-Rop 2 sería una herramienta apropiada para estudiar con mayor profundidad el valor antigénico de Rop 2 y plantear experimentos de inmunogenicidad.

**PR10. Dos familias de ADN repetitivo se encuentran estrechamente ligadas en el genoma de *Toxoplasma gondii*.** M MATRAJT, S ANGEL, V PSZENNY, E GUARNERA, J GARBERI.

ANLIS-Dr. Carlos G. Malbrán, Vélez Sarsfield 563, (1281), Buenos Aires.

Dos familias de ADN repetitivo de *Toxoplasma gondii*, ABGTg7 y ABGTg8 fueron secuenciadas y caracterizadas. Una de ellas, ABGTg7 (721pb), resultó pertenecer a una familia de ADN repetitivo en tandem, con un tamaño de monómero de aproximadamente 340 pb. Uno de los extremos de ABGTg8 (1002pb), denominado Tg8.3 (210pb) mostró compartir un alto grado de homología (75-78%) con monómeros de ABGTg7. El análisis por Southern blot de ADN genómico de *T. gondii* digerido con varias endonucleasas e hibridado con las sondas Tg8.1 (1-513 en ABGTg8) y Tg8.2 (265-780 en ABGTg8), que cubren ABGTg8 excluyendo la región de Tg8.3, nos permitió identificar la presencia de otro ele-



mento repetitivo dentro de ABGTg8 en la región de Tg8.2. El mismo Southern Blot muestra que Tg8.2 sigue un patrón de reconocimiento similar, aunque con menor número de bandas al obtenido con la sonda ABGTg7. Al realizarse un Southern blot con los cromosomas de *T. gondii* separados por Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE), resultó que tanto la sonda ABGTg7 como Tg8.2 hibridaron con los cuatro cromosomas de mayor peso molecular del parásito. Los análisis de sensibilidad realizados con la exonucleasa Bal 31 demostraron que ambas familias de ADN repetitivas parecieran no ocupar un lugar preferencial a lo largo de los cromosomas, detectándose tanto cerca de los extremos como en regiones internas de los mismos. El rastreo de una genoteca de ADN genómica de *T. gondii* hecha en Lambda Dash II, rescató un fago recombinante, donde Tg8.2 se encuentra asociado a elementos de ABGTg7 incompletos. Se concluye que ABGTg7 pertenecería a la familia repetitiva en tandem más representativa de *T. gondii*, con algunas características de ADN satelital, que presenta un alto grado de polimorfismo entre monómeros, y sometida a fuertes modificaciones evolutivas; mientras que la familia repetitiva Tg8.2, tendría una menor representación en el genoma del parásito, y parecería acompañar predominantemente al cluster de ABGTg7.

**PR11. The cytostome of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes is associated to the flagellar complex.** K OKUDA<sup>1</sup>, M ESTEVA<sup>2</sup>, EL SEGU-RA<sup>2</sup>, AT BIJOVSKY<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Depto. Parasitología, ICB-USP, São Paulo, Brasil. <sup>2</sup> INDIECH, Bs. As. Argentina.

Proliferative forms of *T. cruzi*, amastigotes and epimastigotes, have a cytostome, a specialized structure formed by an invagination of the flagellar pocket's membrane surrounded by microtubules and frequently followed by a row of vesicles. All this assemblage penetrates deeply into the cytoplasm overpassing the nucleus. This structure appears to play an important role in the nutrition of the parasite. We demonstrated that the monoclonal antibody FCH-F8-4, made-up against isolated flagellar complex of *T. cruzi* epimastigotes, recognizes a polypeptide with molecular weight around 85 kDa both in detergent soluble and insoluble fractions of epimastigotes. Immunofluorescence assays show the antigen as a small structure at the flagellar pocket region. Immunogold labeling of ultrathin sections of epimastigote forms reveals gold particles at the opening of flagellar pocket, concentrated on the cytostome region. Immunocytochemistry of epimastigote whole-mount cytoskeletons reveals the labeling on an array of 3-4 microtubules that appears attached to flagellum, running in the direction of the nucleus. Ultrastructural observations of isolated flagella show, in their posterior region, at the level of the flagellar pocket, the presence of a microtubular structure compatible with the cytostome. Supported by FAPESP and CNPq. K.O. is a fellow of FAPESP.

**PR12. Fosfolipasas A del *Trypanosoma cruzi*: identificación y caracterización.** BMI PEREIRA, MA RODRÍGUEZ, C CORONEL, HD LUJÁN, DH BRONIA.

Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba, CC 35, Suc. 16. CP 5016. Córdoba.

En las primeras etapas del proceso de internalización, el *Trypanosoma cruzi* se encuentra dentro de una vacuola formada por fusión de lisosomas con la membrana plasmática de la célula huésped. Las bases moleculares de este proceso son desconocidas debido, en parte, a la dificultad que representa la identificación de los cambios bioquímicos que ocurren en esas membranas y que las capacitan para su fusión. Aunque los eritrocitos humanos no son invadidos por el *T. cruzi*, su bien conocida estructura y composición y la capacidad del parásito de adherirse a la superficie de los mismos *in vitro* nos ha permitido observar que el incremento en sus membranas de ácidos grasos libres y lisofosfolípidos produce fusión de los eritrocitos. Estas evidencias permitieron inferir la participación de fosfolipasas en el proceso de desestabilización de membranas celulares y posiblemente en la invasión del parásito a las células del huésped. Además, el pretratamiento del parásito con inhibidores de fosfolipasas A2 (PLA2) suprimió la fusión de los eritrocitos y los cambios bioquímicos asociados. Las PLA2 son importantes en varios procesos celulares fundamentales. Las PLA2 citosólicas (cPLA2; 85 kDa) participan en el metabolismo fosfolipídico y en la generación de segundos mensajeros y las PLA2 secretorias (sPLA2; 14 kDa) en mecanismos de toxicidad e inflamación. Las PLA2 participan además en la invasión de varios microorganismos intracelulares. En este trabajo, utilizando métodos fluorométricos y radiométricos, hemos detectado actividad de PLA2 y PLA1 en varias fracciones subcelulares del parásito y estudiado sus propiedades bioquímicas. Además, utilizando antisueros contra sPLA2 porcina o de veneno de cobra y otro contra cPLA2 humana detectamos la existencia de ambas PLA2s en diferentes estados evolutivos del *T. cruzi*. La purificación, clonado y secuenciado de estas enzimas permitirá comprender el mecanismo de acción de estas enzimas, su regulación durante el desarrollo del parásito y su participación en el fenómeno de penetración a las células del huésped.

**PR13. Caracterización isoenzimática de *Trypanosoma cruzi* del nordeste de Argentina.** MJF REA<sup>1</sup>, CE BORDA<sup>1</sup>, ZA ANDRADE<sup>2</sup>, SE ANDRADE<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales, Facultad de Medicina, UNNE, Santa Fe 1.432, Corrientes, Argentina. Telefax 54-783-25484; <sup>2</sup> Centro de Pesquisas Gonçalo Muñoz, Salvador, BA, Brasil.

Desde 1987 se mantienen tres cepas de *Trypanosoma cruzi*: San Luis (SL) y Apipé Grande (AG) aisladas de *Triatoma infestans* capturadas en viviendas.



de esas localidades de Corrientes y Dorotea (D) del xenodiagnóstico de una enferma, originaria de Formosa. Se intentó infectar sin éxito hasta 30 días de observación «baby» de *Mus musculus* variedad albina con inóculos que contenían 10% de trypomastigotes. Luego los animales inoculados fueron sometidos a la inmunosupresión de 250mg/kg de ciclofosfamida. Las cepas AG y SL presentaron parasitemia, aunque muy baja (50 tryp/50 campos 400x). Para la caracterización isoenzimática se cultivaron en el medio de Warren. Con extractos obtenidos por congelamiento y descongelamiento repetidos se realizaron los análisis electroforéticos de las enzimas GPI, PGM, ASAT y ALAT (Miles y de Andrade). Se usaron como parámetros las cepas Peruana, San Felipe y Colombiana. Los perfiles obtenidos permiten clasificar la tres cepas (SL, AG y D) como correspondiente al IS-2a de acuerdo con la clasificación de Tibayrene considerada como Z2a variante del 22 de Miles. Este zimodema corresponde al perfil enzimático de la cepa Pemana, un tipo biológico (I) altamente virulento, con precocidad en la parasitemia y alta letalidad para el ratón. Sin embargo, estas cepas tuvieron muy baja virulencia para ese roedor debido, probablemente, a su mantenimiento prolongado en cultivos. Trabajo financiado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la UNNE.

**PR14. Efectos de 2-cloro-3,7-diisopropoxifenotiazina sobre el desarrollo del *Trypanosoma cruzi*. AM BRIGADA, S MARENGO, M PESCHANKER, B BASSO, E MORETTI.**

*Centro Regional de Estudios Avanzados, Gobierno de la Provincia de San Luis, Avda del Fundador s/n. Puente Blanco. (5700) San Luis.*

La enfermedad de Chagas continúa siendo una de las endemias de mayor impacto en nuestro país. El tratamiento con los fármacos actualmente disponibles es efectivo durante la fase aguda y en la infección neonatal, presentando en cambio, resultados controvertidos en cuanto a su eficacia durante la fase crónica y, además, poseen efectos tóxicos que limitan su utilización. Por ello, el ensayo de potenciales nuevos agentes quimioterapéuticos es una de las líneas prioritarias en la investigación sobre esta enfermedad. Existe un gran potencial en el diseño de drogas que inhiban específicamente la actividad de la tripanotión reductasa. Estructuras análogas a la clorpromazina poseen cierto grado de selectividad en ese sentido, por lo que su preparación y análisis podrían dar origen a una nueva familia de drogas con actividad antiparasitaria. En el presente trabajo se analizó la actividad de un derivado de la clorpromazina, el 2-cloro-3,7-diisopropoxifenotiazina, sintetizado en nuestro laboratorio, sobre el crecimiento de formas epimastigotes de *T. cruzi*. Este derivado pertenece a la familia de las difenilaminas, precursoras del ciclo básico de las fenotiazinas. La droga fue solubilizada en Dimetilsulfóxido (DMSO), y agregada a cultivos bifásicos de *T. cruzi* cepa Tulahuén, en concentraciones de 5 a 100ug/ml. Como control se realizaron

cultivos con y sin el agregado de DMSO. A concentración de 5ug/ml se comprobó una parcial inhibición del desarrollo de los parásitos. A partir de 20ug/ml se observó un efecto parasiticida, el cual fue mas evidente a mayores concentraciones, llegando a lisis el 100% de los parásitos antes de 24 hrs., cuando se ensayó con 70 y 100ug/ml. Estos resultados alientan la prosecución de los estudios con otros derivados, cuya síntesis se encuentra actualmente en curso, como asimismo el análisis de la actividad frente a los otros estadios del *T. cruzi*.

**PR15. Variación en el número de recambio de <sup>32</sup>P-fosfolípidos de *Trypanosoma cruzi* inducida por interacción con glóbulos rojos humanos. G RACAGNI, M GARRIDO, M RODRÍGUEZ, M PEREIRA, D BRONIA, E MACHADO-DOMENECH.**

*Química Biológica, Fac. de Cs. Médicas, UNC y Dpto. de Biología Molecular, UNRC.*

La internalización del *T. cruzi* (Tc) a la célula blanco implica fenómenos de fusión de membranas y cambios bioquímicos en ambas células. En la interacción de epimastigotes con glóbulos rojos humanos (GR), utilizado como modelo experimental in vitro, se han demostrado cambios a nivel proteico y lipídico, algunos de los cuales estarían relacionados con la fusión de los GR entre sí que ocurre en presencia de calcio (Luján, H, y Bronia, D., *Parasitol.* 108:323, 1994). Con el objetivo de estudiar las variaciones en los fosfolípidos de ambas células, éstas se marcaron con [<sup>32</sup>P]Pi y se realizó la interacción durante una hora en presencia y ausencia de calcio. Para la separación de los GR y Tc se implementó una técnica de centrifugación en gradiente de ficoll/triosom que permitió un alto grado de enriquecimiento, bajo grado de contaminación y conservación de la morfología de cada fracción celular. Los fosfolípidos extraídos fueron analizados por cromatografía en capa delgada, autoradiografía y centellografía líquida. Los resultados encontrados hasta el momento indicaron que el contacto de los epimastigotes con los GR desencadenó una serie de cambios que involucran algunas especies fosfolípicas del *T. cruzi*. Un incremento en las fracciones de fosfatidiletanolamina (PE) y de fosfatidilinositol/lisofosfatidiletanolamina (PI/LPE) y un descenso en la de ácido fosfatídico (PA) dependió de la presencia de calcio (condiciones fusogénicas), mientras que la disminución observada en fosfatidilcolina (PC), aparentemente compensada con un aumento de su lisoderivado (LPC), fue independiente de calcio, por lo que sería una consecuencia del contacto celular. El descenso en PA se relacionaría con un posible intercambio lipídico entre estas células ya que se ha demostrado previamente un aumento de diacilglicerol en la membrana del GR. Los resultados encontrados a nivel de los fosfolípidos del Tc, estarían en concordancia con la disminución encontrada en la relación entre la proporción de marca (cpm) de las fases lipídicas y las proteínas celulares provocada por la interacción *T. cruzi*-glóbulo rojo.



**PR16. Modificaciones en la actividad de glutamato deshidrogenasa en *Trypanosoma cruzi* durante la incubación con glóbulos rojos.** MS REMEDI, PY SCARAFFIA, M RODRIGUEZ, DH BRONIA, NM GEREZ DE BURGOS.

Cát. Química Biológica, Fac. de Cs. Médicas, Univ. Nac de Córdoba, CC 35, Suc. 16, Córdoba, Argentina.

La penetración del *Trypanosoma cruzi* en células huésped es una etapa indispensable para dar origen a las formas replicativas del parásito y cumplir su ciclo de vida. Nuestro grupo de trabajo ha estudiado cambios bioquímicos que ocurren en el parásito durante la incubación con glóbulos rojos humanos (GR). El *T. cruzi* aunque no invade los eritrocitos, induce fusión en los mismos. En trabajos previos se estudió actividad de enzimas involucradas en la producción de energía (glicólisis y ciclo de Krebs), como así también en el metabolismo de los aminoácidos en *T. cruzi* post-inducción de la fusión de eritrocitos humanos. Dada la marcada disminución observada en la actividad enzimática de glutamato deshidrogenasa dependiente de NADP (GDH), producida en epimastigotes de *T. cruzi* durante la incubación con GR, nos propusimos estudiar el mecanismo de inhibición de la GDH utilizando parásitos intactos (PI) y lisados (PL). La actividad específica de GDH en PI incubados con GR, en condiciones que promuevan la fusión de los mismos, fue 50% más baja que en los epimastigotes control (ausencia de eritrocitos). No se observaron diferencias significativas cuando la incubación se realizó con GR lisados. Por el contrario, cuando los PL fueron puestos en contacto con GR se observó una activación de GDH. La actividad específica de GDH en los mismos fue 40% más alta que en los parásitos control. En experimentos donde los GR fueron reemplazados por igual concentración de albúmina, no se registró esta activación, descartándose un posible efecto protector del GR sobre el parásito. Cuando se determinó actividad de GDH en PL incubados con distintas cantidades de GR equivalentes a: 11,8; 23,6; 35,4; 47,2 y 59 mg de proteínas, se observó un incremento en la actividad específica dependiente de la concentración de proteínas. Los valores promedio fueron, con respecto al control, 25%, 54%, 77%, 97% y 97% más altos respectivamente. En contraposición a esto, cuando los GR fueron calentados a 60°C por 20 min. la actividad de GDH disminuyó un 50%. Estos resultados indicarían que los cambios en la actividad de GDH durante la incubación con GR son dependientes de la integridad del parásito.

**PR17. *Trypanosoma cruzi*: variaciones de actividades GDH y MDH en respuesta a cambios estructurales del plasmalema.** RODRÍGUEZ M., PIPET G., COSSY ISASI S. y BRONIA D.;

Cátedra de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

Glicoesfingolípidos sialilados y moléculas semejantes son constituyentes del plasmalema del parásito pero respecto a su relevancia en eventos biológicos los conocimientos son escasos. En esta línea de trabajo, experimentos previos revelaron variaciones en la curva de crecimiento de formas epimastigotes cultivadas en medio suplementado con gangliósidos. La presencia de gangliósidos provocó inhibición in vitro de una actividad PLA en epimastigotes y tripomastigotes. Distintas fases de la curva de crecimiento y el cambio de forma del parásito se correlacionan con cambios en las actividades de enzimas del metabolismo glucolítico y de aminoácidos. Las mismas enzimas podrían participar en la respuesta de corto plazo a cambios estructurales del plasmalema producidos por agregado de gangliósidos al medio de cultivo. En experimentos preliminares se determinaron cambios en las actividades GDH NADPH<sub>2</sub> dependiente y MDH NADH<sub>2</sub> dependiente inducibles por gangliósidos exógenos. Los parásitos (epimastigotes) se cosecharon a los días 4 (fase pre-exponencial); 7 (fase exponencial); 14 (fase estacionaria); y 21 (fase de declinación) y luego de lavados con solución fisiológica se incubaron con gangliósidos 300 mM en medio de Eagle modificado por Dulbecco sin suero, 18 horas previo a la determinación. Se observó para GDH un incremento a 4 (150 %) y a 14 (63 %) días y disminución a 7 (63 %) y 21 (38 %) días. En el caso de MDH hubo un incremento (54 %) a 4 días y disminución a 7 (20 %); 14 (30 %) y 21 (55 %) días. En parásitos de 4 y 7 días incubados a mayor densidad pero igual concentración de gangliósidos, las diferencias respecto a los controles desaparecieron para GDH. En cambio la actividad MDH disminuyó (74 %) a 4 días y a 7 días se anuló la diferencia. Los gangliósidos exógenos son detectables por cromatografía en capa fina del extracto lipídico del parásito, lo que permite suponer su incorporación al plasmalema o al menos una interacción muy fuerte. Estos resultados preliminares indicarían que es posible modificar el metabolismo del parásito induciendo rearrreglos estructurales de la membrana plasmática por tratamiento con gangliósidos.

**PR18. Acción tripanomicida de compuestos sintéticos derivados de inhibidores del crecimiento celular.** LE FICHERA\*, M ESTEVA\*, AJ SCHVARTZAPEL\*\*, JB RODRIGUEZ\*\*, EL SEGURA\*, EG GROS\*\*.

\*Instituto Nac. de Parasitología "Dr. M. Fátala Chaben" Paseo Colón 568, Bs. As. \*\*Dpto. Quím. Orgánica Fac. Cs. Exactas y Naturales, UBA, Bs. As.

El objetivo de nuestro trabajo es evaluar biológicamente derivados de la hormona juvenil y del Fenoxycarb, sobre cultivos de *Trypanosoma cruzi* para la esterilización de la sangre a transfundir. Fueron sintetizados 19 compuestos isoprénicos y no-isoprénicos, con modificaciones en la estructura básica y en algunos grupos terminales, basados en estudios previos que mostraron disminución del crecimiento de epimastigotes



(Schvartzapel A. et al. 1995) y lisis en tripomastigotes sanguíneos (Fichera L. et al. 1995). Diferentes concentraciones de los compuestos fueron incubados con sangre de ratón infectado con tripomastigotes ( $5 \times 10^5$  par/ml) durante 24 hs a 4°C. Diez compuestos mostraron efecto lítico sobre los tripomastigotes sanguíneos. Con 0.75 mM los compuestos isoprénicos 31 y 34 lisaron el  $91.5 \pm 9.6$  y  $96.95 \pm 5.06$  % y a 1.5mM el efecto fue de  $97.4 \pm 6.2$  y  $99.73 \pm 0.59$  %. Con esta concentración los fenoxi-derivados 30 y 36 lisaron los parásitos en un  $97.07 \pm 2.5$  y  $98.0 \pm 7.0$  % y con 0.75mM el efecto fue menor ( $84.7 \pm 10.1$  y  $81.5 \pm 6.0$  %). La toxicidad de las drogas están siendo evaluadas en cultivos de células musculares. Estos resultados nos llevan a continuar con el estudio de nuevos compuestos para lograr drogas más activas e inocuas para su utilización en bancos de sangre.

**PR19. Identificación y caracterización en *Trypanosoma cruzi* de proteínas homólogas a la glutatión-S-transferasa de 26 kDa de *Schistosoma japonicum*.** GA GARCIA, MI ESTEVA, E BONTEMPI, J BUA, AM RUIZ.

Instituto Nacional de Parasitología «Dr. Mario Fátala Chabén», Paseo Colón 568, (1063) Buenos Aires.

Las glutatión-S-transferasas (GSTs) son un grupo de enzimas involucradas en la detoxificación que catalizan la conjugación del glutatión reducido con compuestos electrofílicos nocivos para la célula. Las GSTs de *Schistosoma* son un blanco potencial para inmuno y quimioterapia contra la enfermedad que dichos parásitos provocan. Si bien se detectó actividad para dicha enzima en *Trypanosoma cruzi*, aún no se caracterizó totalmente alguna glutatión o trypanotión-S-transferasa. El objetivo de este trabajo es la identificación de enzimas homólogas a la GST de 26 Kda de *Schistosoma japonicum* (GSTsj) expresada por el plásmido pGEX1 en *T. cruzi*, ya que se observó reactividad de un antisuero contra esta proteína sobre antígenos de este parásito. A partir de la fracción citosólica de epimastigotes de la cepa Tulahuén (stock Tul 2) se purificó por inmunoafinidad, utilizando anticuerpos purificados del mencionado antisuero, un grupo de proteínas homólogas a la GSTsj (PHGSTsj). En electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS la fracción PHGSTsj mostró tener al menos diez proteínas con un peso molecular entre 10 y 56 Kda. Una de ellas de 11.7 Kda fue seleccionada para realizar la secuencia N-terminal y se observó que los primeros quince aminoácidos mostraron homología con enzimas de óxido reducción de distintos organismos, entre ellas algunas pertenecientes a la familia de las flavoenzimas transhidrogenasas, indicando la posible presencia de una enzima que participe del metabolismo del glutatión en *T. cruzi*, ya que tanto la glutatión reductasa de mamíferos como la trypanotión reductasa de *Trypanosomatids* pertenecen a esta familia. Se realizó un rastreo inmunológico en una genoteca de *T. cruzi* que permitió identificar varios

clones. Algunos mostraron tener insertos de 4500 pb y actualmente se está procediendo a la secuenciación de los mismos a fin de caracterizar genéticamente a estas proteínas que podrían constituirse en posibles blancos de ataque para la destrucción del parásito. Este trabajo recibió financiación del MSyAS de Argentina, de la RTPD network (SIDA/SAREC) y del TDR, WHO.

**PR20. Variaciones en los niveles de inositol trifosfato y calcio intracelular en epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* estimulados.** M BOLLO, MN GARRIDO, EE MACHADO- DOMENECH.

Dpto. Biología Molecular, FCEFQN, Univ. Nac. de Río Cuarto, Río Cuarto.

Nuestro grupo de trabajo demostró, por primera vez, en *Trypanosoma cruzi* la actividad de PLC mediante cambios observados en componentes fosfolipídicos y solubles luego del agregado de carbacol. Recientemente observamos que este agonista también provoca variaciones en la concentración de calcio intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ). Además, resultados obtenidos con el ester de forbol TPA, sugirieron un papel regulador de PKC sobre las actividades de DAG-quinasa y fosfoinosítido-quinasas. Por otro lado, cuando se utilizó un fragmento de la  $\alpha$ -globina de pollo (péptido 1-40), capaz de inducir la metacicloogénesis en el parásito y estimular la adenilato ciclasa, observamos aumentos en los niveles de inositol trifosfato (IP3). En base a estos antecedentes, nuestro objetivo fue estudiar cambios probables en la  $[Ca^{2+}]_i$  inducidos por la presencia del péptido 1-40 e investigar el compromiso de PKC en la regulación de la actividad PLC y en la señal de calcio intracelular del parásito. En este trabajo, los inositoles fosfato se resolvieron por cromatografía en Dowex AG 1-X8 mediante gradiente de formiato de amonio y el calcio intracelular fue medido en suspensiones de células con Fura2- AM. Los resultados demostraron que la estimulación de los parásitos con el péptido 1-40, provocó una rápida elevación de  $[Ca^{2+}]_i$ . La preincubación de las células durante 20-30 minutos con TPA, no modificó la magnitud de la respuesta del calcio. En estas condiciones, los niveles de IP3 obtenidos a los 3 minutos del agregado del agonista, no variaron sustancialmente con respecto al control no estimulado; sugiriendo que, en el tiempo estudiado, la actividad PLC no estaría bajo el control de PKC. Cuando se estudiaron los efectos de una preincubación de 30 minutos con TPA en la estimulación con carbacol, se observaron variaciones de calcio intracelular que fueron semejantes a las del control estimulado. Sin embargo, esta preincubación con TPA fue capaz de anular el aumento en los niveles de IP3 que se observan al minuto de agregado el agonista. Estos resultados sugieren que PKC modularía la actividad PLC. Además, contribuiría indirectamente a la señal de calcio intracelular del parásito; de esta manera, los cambios en los niveles de IP3 no serían el único requerimiento para provocar la movilización de calcio intracelular luego de un estímulo muscarínico.



**PR21. Respuesta de dos cepas de *T. cruzi* a la adición al medio de extractos crudos de vegetales.** JA OPPEZZO, RA MARTINEZ, MC MIGLIETTA, MA BARRIOS, HF MIGLIETTA.

CIEN, Facultad de Bioquímica y Cias. Biológicas, UNL. Pje. El Pozo, 3000 Santa Fe.

En trabajos anteriores informamos sobre la respuesta de dos cepas de *T. cruzi* a la adición al medio de cultivo de extractos crudos de vegetales. En este trabajo completamos la comunicación con el ensayo de otros extractos. Se ensayaron extractos crudos de las partes vegetativas de *Braccharis crispa*; hojas de *Pneumum boldus*; corteza y hojas de *Erythrina cristagalli*, a las concentraciones de 5,0 mg res. seco/l y 20,0 mg res. seco/l en cultivos monofásicos agitados de las cepas Tulahuén O -TO y Tulahuén 2 -T2- de *T. cruzi*, evaluándose la densidad celular en función del tiempo. Los resultados muestran que *B. crispa* deprime el desarrollo de T2 independientemente de la concentración y estimula TO inversamente a la concentración. El extracto de *P. boldus* deprime el desarrollo de TO y T2 en ambas concentraciones, en relación directa. *E. cristagalli* -corteza- deprime el desarrollo de T2 a la menor concentración y estimula levemente en la mayor concentración. Con respecto a TO, la deprime en relación directa a la concentración. *E. cristagalli* -hojas- deprime a T2 en relación directa a la concentración y a TO inversamente a la concentración. Se concluye que: 1) Extracto de diferentes especies vegetales o partes de un mismo vegetal tienen diferentes efectos en el desarrollo del *T. cruzi* en cultivos monofásicos agitados. 2) Los efectos sobre el desarrollo no necesariamente dependen de la concentración. 3) Diferentes cepas de *T. cruzi* presentan distintos comportamientos en su desarrollo frente a la presencia en el medio del extracto de un mismo vegetal.

**PR22. Fosfolípidos de *Trypanosoma cruzi*: un nuevo producto metabólico del ácido fosfatídico.** N MARCHESINI, G HERNANDEZ, V SANTANDER y E MACHADO-DOMENECH.

Química Biológica, Universidad Nacional de Río Cuarto 5800 Río Cuarto, Córdoba.

El ácido fosfatídico (PA), producto de la actividad diacilglicerol quinasa (DAG-k) o fosfolipasa D (PLD), puede desencadenar respuestas mitogénicas y regular las actividades de diferentes enzimas como PKC, la proteína activadora de la actividad GTPasa de la Ras (RasGAP) y de la fosfatidilinositol-4-fosfato quinasa (PIP-k). Además, el PA puede ser metabolizado a diacilglicerol pirofosfato (DAGPP) por la fosfatidato quinasa PA-k, encontrada sólo en diferentes tejidos vegetales. Estudios realizados en nuestro laboratorio evidenciaron que *Trypanosoma cruzi* presenta la capacidad de responder a estímulos externos mediante la variación de los niveles de polifosfoinosítidos, PA y calcio citosólico. Así, nuestro objetivo fue, estudiar la regulación de los niveles del ácido fosfatídico, luego de su estimulación y determinar la participación de la

fosfatidato quinasa en membranas de epimastigotes de *T. cruzi*. Las células cultivadas durante 6 días a 28 °C, se cosecharon y homogenizaron. La estimulación con PLD exógena se llevó a cabo durante 1 h en presencia del amortiguador KRT con glucosa y albúmina 1,8 % y 0,25 %, respectivamente. Cuando las lípido quinasa, presentes en la preparación de membranas, fueron incubadas en presencia de 1 mM [ $\gamma^{32}$ ]ATP, con o sin el agregado de PA exógeno (dioleoil o dipalmitoil PA) se obtuvieron tres compuestos radiactivos. Dos de ellos fueron productos de las conocidas lípido quinasa DAG-k y PI-k y uno con un valor de Rf similar al DAGPP. La formación de este último fue dependiente del tiempo, pH, temperatura y concentración del fosfatidato. Sin embargo, bajo iguales condiciones, las membranas calentadas 30 min. a 95 °C también evidenciaron la presencia de dicho compuesto. Resultados similares se observaron en las membranas tratadas con PLD, respecto al control. Este hecho indicaría que el DAGPP es un lípido minoritario cuya concentración aumenta cuando se incrementa una señal. El presente estudio puede tener implicancias importantes para la regulación de la respuesta celular a través de agonistas que induzcan variaciones en el metabolismo de los polifosfoinosítidos y ácido fosfatídico.

**PR23. Optimización de la purificación de una proteína símil lectina de *Trypanosoma cruzi* mediante cromatografía de afinidad sobre matriz agarosa.** E WELCHEN, I MARCIPAR A SILBER, A MARCIPAR.

Instituto de Tecnología Biológica (INTEBIO) - U. N. L. Ciudad Universitaria, C. C. 530 Paraje "El Pozo" (3000) Santa Fé, Argentina. Tel. (54) (42) 531532 Fax: (54) (42) 555169.

El *T. cruzi* agente etiológico de la enfermedad de Chagas, debe obligatoriamente invadir células para completar su ciclo de vida en el huésped. La fase de reconocimiento, en las etapas tempranas del proceso de penetración, involucra fundamentalmente a residuos glucídicos de los glicoconjugados de membrana presentes, tanto en la superficie de las células del huésped como en la superficie del parásito. En nuestro laboratorio se ha obtenido a partir de células del *T. cruzi* una glicoproteína símil lectina con capacidad de unión a residuos galactosa de las membranas celulares del huésped, de 65 kDa de peso molecular aparente. La purificación de esta glicoproteína fue llevada a cabo originalmente utilizándose como matriz de afinidad una columna de membranas desializadas de glóbulos rojos humanos, entrecruzados con albúmina. Con la proteína purificada en esta matriz se inocularon conejos con la finalidad de obtener sueros hiperinmunes que por Western Blot contra lisados de parásitos, mostraron una banda amplia de peso molecular compatible con el de la proteína purificada. Sin embargo, por la técnica de ELISA, estos sueros mostraron además una fuerte reactividad cruzada con otros antígenos de membranas de la familia de la cruzipaina. Frente a esto se decidió optimizar la estrategia de purificación de la proteína



simil lectinas utilizando los residuos galactosa expuestos por la agarosa (polímero de galactosa). A partir de la elución de esta columna, previamente enfrentada a extractos de parásitos, purificamos una proteína del mismo peso molecular que la descrita anteriormente, con la que se obtuvieron sueros que no presentaron la reacción cruzada antes descrita. Esto nos permite inferir que la proteína en estudio no comparte epitopes con la cruzipaina, y que la purificación por afinidad sobre agarosa es más específica que la purificación sobre membranas de eritrocitos desializados.

**PR24. Anticuerpos anti-galactosa y su purificación en una columna de agarosa.** MG RISSO, IS MARCIPAR, AM SILBER.

*Instituto De Tecnología Biológica (Intebio), Facultad De Bioquímica Y Ciencias Biológicas (UNL).*

Los anticuerpos anti-galactosa son anticuerpos naturales, cuyo nivel en suero se encuentra aumentado en pacientes que padecen infecciones por agentes como *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* y *Trypanosoma cruzi*, entre otros. Entre los determinantes antigénicos más significativos que el *T. cruzi* presenta al sistema inmune se encuentran los residuos galactosil de los glicoconjugados de membranas. Dado que la agarosa es un polímero de galactosa (d-galactosa alternada con 3,6 - anhidro - l - galactosa), se decidió evaluar la capacidad de esta matriz como superficie de captura para anticuerpos anti-gal de sueros de personas chagásicas por inmunofluorescencia, para su posterior caracterización. Estos anticuerpos fueron purificados fraccionando mezclas (pools) de sueros provenientes de pacientes chagásicos crónicos en columnas de agarosa. Se eluyó por desnaturalización con solución de glicina-ácido clorhídrico de pH 2,5. El material eluido de la columna a partir de mezclas de sueros fue corrido en un gel de poliácido láctico con SDS. Se observaron únicamente las bandas correspondientes a las cadenas pesada y liviana de los anticuerpos (aproximadamente 60 y 40 kDa). Mediante el uso de conjugados isotipoespecíficos se determina por Elisa la presencia de anticuerpos de tipo IgG. Se comprobó que a partir de las mezclas de sueros de pacientes chagásicos la cantidad purificada de anticuerpo fue muchas veces superior que la obtenida siguiendo el mismo protocolo con un pool de sueros de pacientes no chagásicos. La presencia de niveles basales de anticuerpos contra estos azúcares en sueros de personas no infectadas por el *T. cruzi* se debería a que durante la maduración del sistema inmune aparecen anticuerpos reactivos contra los residuos glucídicos de las bacterias constitutivas de la flora intestinal. Estos anticuerpos contribuirían a la inmunidad llamada innata o natural. Se está procediendo a un mapeo de la especificidad de estos anticuerpos por ensayos de competencia con azúcares solubles, así como a un estudio de la contribución de estos anticuerpos a la modulación de la respuesta frente a la infección en el huesped.

**PR25. Identificación, caracterización y evaluación de la relevancia antigénica de una glicoproteína de 65 kDa, aislada de *Trypanosoma cruzi*, que**

**posee actividad de reconocimiento de residuos Galactosa.** C ROODVELDT, I MARCIPAR, M GONZALEZ, E WELCHEN, A SILBER, A MARCIPAR.

*Instituto de Tecnología Biológica (INTEBIO) - U. N. L. Ciudad Universitaria, C. C. 530 Paraje «El Pozo» (3000) Santa Fé, Argentina. Tel. (54) (42) 531532 Fax: (54) (42) 555169.*

A partir de lisados de epimastigotes de *T. cruzi* se ha obtenido una proteína capaz de ligar residuos galactosa. La purificación se realizó por cromatografía de afinidad. Las matrices utilizadas consistieron en membranas eritrocitarias desializadas, y albúmina entrecruzadas con glutaraldehído. Los residuos expuestos en este sistema incluyen, entre otras, a la estructura D-Gal-b-(1-3)-D-GalNAc, que han sido descritos como intervinientes en las reacciones de reconocimiento huesped-parásito. Para eluir moléculas retenidas específicamente sobre estos sitios se utilizó una solución de galactosa (elución por competición de ligandos). El eluato fue analizado mediante las técnicas de SDS-PAGE y Western Blot. Se identificó una única banda de 65 kDa. Mediante ensayos con Concanavalina A-peroxidasa, se ha determinado la presencia de regiones de naturaleza glucídica en esta proteína. La localización intracelular de esta molécula fue determinada por inmunofluorescencia. Las regiones marcadas correspondieron fundamentalmente al sistema de membranas del retículo y el sistema de Golgi. Se evaluó por ELISA la reactividad antigénica de la glicoproteína purificada, sobre un panel de 103 sueros (53 negativos y 50 positivos). Para este antígeno se obtuvieron valores de especificidad y sensibilidad de 98,11% y 98% respectivamente. Estos resultados y la posible relación de esta glicoproteína con mecanismos de reconocimiento e interiorización, enfatizan el interés de su estudio como posible antígeno relevante desde el punto de vista diagnóstico y de su importancia en el estudio de la fisiopatología de la enfermedad de Chagas.

**PR26. Desarrollo de un ensayo para la determinación de avidéz de IgG específica para conocer la antigüedad de la infección por toxoplasmosis.** IS MARCIPAR\*, ML DALLA FONTANA\*\*, S FUSCO\*\*.

*\* Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Lab. Gen Cell SRL. \*\*Laboratorio de Zoonosis del Programa de la Red de Laboratorios. Ministerio de Salud y Medio Ambiente de la Provincia de Santa Fe.*

La infección por *T. gondii* en la mayoría de los casos es asintomática. El feto en formación, en cambio, es muy sensible a la infección. Por eso, la detección de una infección activa en mujeres embarazadas constituye un objetivo importante. En esta parasitosis el diagnóstico serológico convencional (IgG, Anticuerpos totales o IgM) es insuficiente para definir el estado de la paciente. Por un lado, el gran porcentaje de seropositividad para la IgG específica en la población



no permite determinar entre una infección crónica o una infección aguda sin realizar por lo menos dos determinaciones seriadas. Por otro lado, la persistencia de altos títulos de IgM específica, en muchos casos después del año de la primoinfección, tampoco nos permite utilizar este parámetro para discriminar entre una infección activa o una infección reciente pero que ya ha pasado a cronicidad. En los últimos años se propuso la determinación de avidez de IgG específica para responder a esta falencia estudiando las condiciones de disociación Ag-Ac de los anticuerpos IgG con distintos agentes caotrópicos. En este trabajo se realizaron seguimientos de pacientes, desde el momento de la primoinfección determinada clínicamente, y se encontró la mejor correlación clínica y la más alta diferencia entre los distintos estadios de la infección, realizando eluciones seriadas de los anticuerpos retenidos por antígenos de *T. gondii* en placas de microtitulación con urea 3, 6, 8 y 10 M, luego revelando por la técnica de ELISA y calculando la pendiente de DO versus diluciones del agente caotrópico. La técnica mostró buena respuesta para diferenciar entre una infección activa y una infección reciente pero que ya ha pasado a cronicidad.

**PR27. KDNA PCR-based diagnosis and genetic identification of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* sp. clones.** SF BRENIERE, MF BOSSENSO, J TELLERIA.

UMR CNRS/ORSTOM n° 9926, Laboratoire de Génétique Moléculaire des parasites et des Vecteurs, La Paz, Bolivia

Kinetoplastidae parasites have an extra nuclear DNA, the kinetoplaste DNA that present minicircles highly repeated in one cell. The minicircles of kDNA are composed of conserved regions flanking variable ones. The variable regions are candidate for development of sub-species DNA probes in Kinetoplastidae taxon presenting mainly a clonal structure. The general procedure was a follow: obtaining of variable regions minicircle kDNA probes by Polymerase Chain Reaction (PCR), study of the specificity of the probes by hybridization with variable regions obtained from a set of strains previously genetically characterized by multilocus isoenzyme typing. We fully demonstrate that the minicircle variable kDNA regions of *Trypanosoma cruzi* clones are specific of «sub-species» taxonomic clade and can be used as probes for detection of genetically similar clones. Moreover, the PCR amplification of the variable regions was applied in human blood and vectors feces. The products of amplification hybridized with specific probes allowed the direct detection of clones in the different hosts. Nevertheless, the sensitivity of the PCR appears to be variable according to the endemic area. Lastly, we defined a set of primers allowing the amplification of variable parts of kDNA of *Leishmania* sp. We also test the specificity of these products and observed a tight linkage between hybridization patterns and «complexes» of *Leishmania*. This method allowed

the identification of two potential mammal reservoirs in a recent Andean focus of *Leishmania amazonensis*. These results show that the variability, of the minicircles of Kinetoplastidae of parasite presenting clonal structure, can be used to differentiate genetic groups in each taxon. The kDNA PCR followed by hybridization confer a convenient tool for field epidemiology.

**PR28. Glicoproteínas aceptoras de ácido siálico en *Trypanosoma cruzi* clon CL 14.** ML SALTO<sup>1</sup>, M GONÇALVES<sup>2</sup>, W COLLI<sup>2</sup>, RM de LEDER-KREMER<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>CIHIDECAR Departamento de Química Orgánica, FCEyN, UBA. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad de São Paulo, Brazil.

Las glicoproteínas de 35-50 kDa de *T. cruzi* presentan cadenas O-glicosídicas de estructura inusual unidas a la proteína por GlcNAc en lugar de GalNAc como ocurre generalmente. Se determinó que los oligosacáridos son los aceptores de ácido siálico en la reacción catalizada por trans-sialidasa. Por otra parte, en dos cepas estudiadas (G y Y) se encontró que los oligosacáridos se diferencian por la presencia (cepa G) de galactosa furanósica. Dada la importancia de este azúcar como determinante antigénico estudiamos ahora la estructura de las glicoproteínas en *T. cruzi* CL-14. Se utilizaron células epimastigote incorporadas con [<sup>3</sup>H]-glucosa y células no radioactivas, deslipidadas por sucesivas extracciones con cloroformo/metanol. Las glicoproteínas se extrajeron con agua saturada en butanol, se purificaron por cromatografía hidrofóbica en columna de Octil-Sefarosa CL-4B y se analizaron por SDS-PAGE. Se observó en una de las fracciones una banda ancha en la zona de 35-50 kDa que no se separa en tres bandas (ABC) como en el caso de las glicoproteínas aisladas de la cepa Y con las cuales se comparó. Los oligosacáridos con uniones O-glicosídicas se obtuvieron por  $\beta$ -eliminación reductiva y se analizaron por cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución y detección por pulso amperométrico (DIONEX). La técnica de análisis se puso a punto con N-acetilglucosaminol (GlcNAc-ol) y los oligosacáridos reducidos Galf( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)GlcNAc-ol (A) y Galf $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4(Galp $\beta$ 1 $\rightarrow$ 6)GlcNAc-ol que fueron anteriormente caracterizados en las mucinas de la cepa G y sintetizados por primera vez en nuestro laboratorio (Gallo et al, 1996). Se determinó que el producto principal de la reacción de  $\beta$ -eliminación es GlcNAc, el cual se había determinado también como componente mayoritario entre los azúcares obtenidos de la cepa G (Acosta Serrano et al, 1995). Por el contrario, en la cepa Y la GlcNAc sin sustituir se encuentra como componente menor (Prevati et al, 1995). Se está estudiando la estructura de los oligosacáridos liberados de la mucina en *T. cruzi* CL 14 con el fin de determinar si hay alguna correlación de los azúcares con las propiedades biológicas de la cepa.



**PR29. *Trypanosoma cruzi*: Modificación estructural de las cadenas N-glicosídicas de la glicoproteína Tc-85 cuando es liberada al medio de cultivo.** AS COUTO\*, R AGUSTI\*, MJ MANSO ALVES\*\*, W COLLI\*\*, RM de LEDERKREMER\*.

\*CIHIDECAR, Departamento de Química Orgánica, F.C.E.y N.- UBA, Argentina, y \*\*Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad de San Pablo, Brasil.

Se postula que la presencia de antígenos circulantes en suero de pacientes infectados provocaría el daño de células no infectadas debido a la respuesta inmune dirigida contra ellos. Entre las numerosas proteínas de superficie, una glicoproteína específica del estadio trypomastigote, la Tc-85, ha sido involucrada en la adhesión y/o penetración del parásito a la célula huésped. La glicoproteína Tc-85 ha sido identificada entre los compuestos que son liberados al medio de cultivo en forma de vesículas. El estudio de la cadena N-glicosídica de la proteína de parásitos mostró la presencia de una cadena compleja conteniendo ácido siálico, fucosa y gala(1-3)gal. Con el objeto de comparar esta cadena con la de la proteína liberada al medio se separó el mismo, se liofilizó y la glicoproteína Tc-85 fue purificada por cromatografía de afinidad. La misma se desializó y las cadenas N-glicosídicas fueron liberadas con endo N-acetilglucosaminidasa F, marcadas por reducción con  $\text{NaB}^3\text{H}_4$  y purificadas por BioGel P2. El análisis por cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución (HPAE-PAD) del producto marcado obtenido, permitió la separación de 3 oligosacáridos (NG1, NG2 y NG3) de tiempos de retención menores que el obtenido de parásitos. La hidrólisis de cada una de las cadenas con diferentes enzimas mostró que: NG1, NG2 y NG3 son sensibles al tratamiento con  $\alpha$ -L-fucosidasa. Sin embargo, mientras que NG2 y NG3 fueron hidrolizadas con  $\alpha$ -manosidasa, sólo NG3 mostró ser sustrato de  $\alpha$ -galactosidasa. Estas observaciones indican que, en el proceso de vesiculación, actuarían ciertas enzimas que modifican las cadenas N-glicosídicas de la proteína. Se han observado anteriormente, también diferencias entre los componentes lipídicos del medio con respecto a los del parásito.

**PR30. Optimización de las condiciones de desenquistamiento in vitro de *Cryptosporidium parvum*.** B PEZZANI, E BAUTISTA, A CORDOBA, MM DE LUCA, JA BASUALDO.

Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, U.N.L.P. 60 y 120 (1900) La Plata

Para evaluar la viabilidad de los ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, se desarrolló y optimizó la técnica de desenquistamiento in vitro. Los ooquistes de *C. parvum* utilizados se obtuvieron de una muestra fecal de un niño con criptosporidiosis sintomática. La muestra fue procesada por la técnica de gradiente discontinuo de sucrosa hasta obtener una suspensión de ooquistes purificados y concentrados (OPC). Los

ooquistes se cuantificaron en cámara de Neubauer y preservaron en PBS pH 7,2 a 4°C. Los dos protocolos ensayados a partir de alicuotas de 100µl de OPC con 178.000 ooquistes/mm<sup>3</sup> se mencionan a continuación: I-Tratamiento con bilis 1% y bicarbonato de sodio 0,44% a 37°C durante 24 hs. Grupo A: con pretratamiento con tripsina acidificada pH 2,75 a 37°C durante 1 h. Grupo B: sin pretratamiento con tripsina acidificada. II-Tratamiento con bilis 1% (B) con pH 6 y pH8, con y sin bicarbonato de sodio al 0,44% (BS) con y sin incubación con 10% de CO<sub>2</sub> durante 24 hs a 37°C. Grupo 1: B pH 6 Grupo 2: B pH 6-BS Grupo 3: B pH 6-BS-CO<sub>2</sub> Grupo 4: B pH 6- CO<sub>2</sub> Grupo 5: B pH 8 Grupo 6: B pH 8-BS Grupo 7: B pH 8-BS-CO<sub>2</sub> Grupo 8: B pH8- CO<sub>2</sub>. Luego de los procedimientos se evaluó el grado de desenquistamiento en todos los grupos efectuando el conteo de los ooquistes intactos en cámara de Neubauer. Resultados: El recuento en el Grupo A reveló un promedio de 28.000 ooquistes/mm<sup>3</sup> (15,7%) y en el Grupo B 22.000 ooquistes/mm<sup>3</sup> (13%). Los desenquistamientos fueron del 84 % para el Grupo I y 87 % para el Grupo II. Los porcentajes de desenquistamiento para los Grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 fueron: 49,5%, 83,2%, 88,3%, 56,75%, 92,7%, 83,2%, 88,3%, 94,1% respectivamente. El mayor desenquistamiento se produjo en el Grupo 8 con un conteo de 10.500 ooquistes/mm<sup>3</sup> (5,9%) lo que indica una viabilidad superior al 90%. Conclusiones: La preincubación con tripsina no incrementó el desenquistamiento de los ooquistes de *C. parvum*. Las mejores condiciones de desenquistamiento fueron utilizando bilis al 1 % pH 8 incubado con 10% de CO<sub>2</sub> a 37°C durante 24 hs.

**PR31. Microanálisis por EDS/SEM de *Trichomonas vaginalis*: Experiencia preliminar.** S. R. COSTAMAGNA y M. PRADO FIGUEROA.

Cátedra de Parasitología Clínica, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670. (8000). Bahía Blanca, Argentina.

Como parte de estudios que estamos realizando sobre *Trichomonas vaginalis*, es que presentamos este estudio preliminar referido a la presencia de minerales en la superficie del parásito, por microanálisis a través del microscopio electrónico de barrido, a fin de relacionarlos con estudios previos sobre fenómenos de endocitosis, realizados por los autores. Para ello se recolectó secreción vaginal con hisopo estéril de fondo de saco de pacientes con Trichomonosis. Se cultivó dicha muestra en medio líquido de Diamond (Menarini. Cod. Tric. 20. Ref. 1038. Barcelona. España) durante 72 horas a 37 grados centígrados. Posteriormente se concentran los parásitos por centrifugación, fijándose luego los mismos con glutaraldehído al 2% en buffer fosfato 0.05M pH 7.2. Se mantienen en heladera durante 15 días. Luego se efectúan cinco lavados con agua bidestilada estéril, centrifugando a 2000 rpm. 5 min. cada vez. Se metaliza luego el sedimento obtenido y se observa en microscopio electrónico de barrido JEOL 35CF a 12 Kv. Una vez identificado y documentado el flagelado se procede al microanálisis del mismo mediante un analizador EDAX,



a 7800X y 15Kv. Como resultado de las experiencias, y luego del análisis de los espectros y mapeos obtenidos, pudimos observar que, si bien se revela la presencia de Zn, Na, Al y K en concentraciones importantes, los mismos minerales se hallan también en el resto de la preparación. Iguales resultados obtuvimos al analizar *T. vaginalis* procesadas mediante la metodología habitual para SEM. Si bien el límite de detección del método es de más del 1% del peso del Protozoario, y el análisis no supera la micra de profundidad, no podemos, en este primer estudio aventurar conclusiones respecto de la verdadera utilidad de la metodología empleada. A fin de que otros autores tengan en cuenta ésta, nuestra pequeña experiencia en el uso del microanálisis por EDS/SEM, es que presentamos esta breve comunicación.

**PR32. Proteasas involucradas en el proceso de diferenciación de *Giardia lamblia*. MC TOUZ<sup>1</sup>, T.E. NASH<sup>2</sup>, HD LUJÁN<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba, CC 35, Suc. 16. CP 5016. Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA.

*Giardia lamblia* es un protozoo parásito que habita en el intestino superior de humanos y de otros mamíferos. *Giardia* posee dos formas evolutivas: el quiste y el trofozoito. El quiste se diferencia del trofozoito por poseer una pared glicoproteica externa que protege al parásito fuera del intestino del huésped. Previamente identificamos dos proteínas de la pared del quiste denominadas CWP1 y CWP2 (cyst-wall proteins 1 and 2) y secuenciado sus genes. Ambas proteínas no se expresan en trofozoitos normales, son inducidas con la misma cinética durante el enquistamiento y forman un complejo que se localiza en gránulos de secreción específicos en trofozoitos en proceso de enquistamiento y en la pared de quistes maduros. CWP1 y 2 poseen diferente peso molecular (26 y 39 kDa respectivamente) pero la secuencia de sus genes muestra que poseen una gran homología en la fracción de 26 kDa que tienen en común (cinco dominios repetitivos ricos en leucina y un dominio rico en cisteína). CWP2 posee además una extensión carboxi-terminal de 13 kDa muy rica en aminoácidos básicos. En este trabajo demostramos que la liberación de esa extensión por acción de una proteasa tipo cisteína es un requisito esencial para la formación de la pared del quiste. Además, la actividad de otra proteasa, en este caso una aminopeptidasa, es necesaria para la transmisión del estímulo del enquistamiento y de la expresión de los genes de las CWPs. Así, inhibidores de proteasas tipo cisteína no afectan la síntesis de las CWPs, pero inhiben su liberación de los gránulos de secreción y la formación de la pared quística. Inhibidores de aminopeptidasas, por otro lado, impiden el enquistamiento del parásito en presencia del estímulo específico. Siendo el quiste el responsable de la transmisión de la enfermedad, estos eventos proteolíticos

ofrecen no sólo nuevos blancos para el diseño de agentes terapéuticos, sino también bases sólidas para comprender la regulación génica y bioquímica de la diferenciación de células más evolucionadas.

**Vectores: VE**

**VE1. Monitoreo de la reinfestación por triatominos en el noreste santiagueño durante cuatro años. RE GÜRTLER,<sup>1</sup> MC CECERE,<sup>1</sup> DM CANALE,<sup>2</sup> MB CASTAÑERA<sup>1</sup>, R CHUIT<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Depto. de Biología, FCEN-UBA, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires. <sup>2</sup>Servicio Nacional de Chagas (SNCh), 9 de Julio 356, 5000 Córdoba. <sup>3</sup>Dirección de Epidemiología de la Nación. Av. 9 de Julio 1925, 1332 Buenos Aires.

Se comparó longitudinalmente la efectividad de cuatro métodos de detección de reinfestaciones domiciliarias por triatominos en 85-102 casas de Amamá y poblados vecinos (Santiago del Estero) luego de la aplicación de deltametrina para la eliminación de *Triatoma infestans* a fines de 1992. En esta fecha se colocó un promedio de 3 pares de biosensores y hojas de papel sobre las paredes de los dormitorios de cada casa y se los inspeccionó cada 6 meses hasta fines de 1996. Usando un agente desalojante, un equipo experto de tres personas del SNCh buscó triatominos en dormitorios y peridomicilios una vez al año en cada noviembre desde 1993 hasta 1996, y sólo en peridomicilios en mayo de 1995 y 1996 (hora-hombre). Cada familia fue provista de una bolsa de plástico etiquetada para coleccionar triatominos en cualquier parte de su vivienda. La vigilancia no fue completa, y sólo hubo rociados selectivos peridomiciliarios, y no domiciliarios, hasta 1995. Los muestreos colectaron *T. infestans* más frecuentemente que la hora-hombre en dormitorios, pero lo opuesto ocurrió en peridomicilio. Ambos métodos y los biosensores revelaron la frecuente invasión domiciliar de adultos de *T. infestans* y *Triatoma guasayana*, pero no de *Triatoma sordida*, sin que ocurriera una ulterior colonización domiciliar. Los biosensores fueron significativamente más sensibles que las hojas de papel en 3 de 5 relevamientos. En promedio, cada biosensor registró 2,0-3,2 veces más deyecciones de triatominos que cada hoja de papel apareada. La frecuencia de deyecciones en los biosensores desde 1992 hasta fines de 1995 se correlacionó positivamente con la proporción de casas en que se capturó *T. infestans* en domicilio por algún método desde fines de 1995 hasta fines de 1996. Así, el valor predictivo positivo de las deyecciones respecto de la captura futura de *T. infestans* aumentó del 27% en las casas con 0-1 deyecciones en biosensores durante 3 años al 33% y 64% en las casas con 3-9 y 10 o más deyecciones, respectivamente. La combinación de métodos de detección más sensible y costo-efectiva para la vigilancia fue el biosensor y la captura por los muestreos.



**VE2. Los hidrocarburos de la superficie cuticular de *Triatoma infestans* funcionan como fuente de carbono apta para el desarrollo de hongos patógenos.** MP JUAREZ, R NAPOLITANO, R CRESPO.

*Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Facultad de Ciencias Médicas - UNLP- calles 60 y 120 La Plata (1900), Prov. Bs. As. Fax #: 021 258988*

**Objetivos:** En procesos de infección fúngica, la primera barrera a la penetración es la cutícula del insecto. Nuestro objetivo fue estudiar la bioquímica de la interacción entre hongos entomopatógenos y los hidrocarburos que protegen la superficie externa de la cutícula. **Métodos:** Se utilizaron cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* virulentas a *T. infestans*. La composición de hidrocarburos se analizó por cromatografía gaseosa (GC). La utilización de hidrocarburos se midió empleando precursores radiactivos y analizando los productos de degradación mediante técnicas de radio cromatografía en placa delgada (radio TLC) y radio cromatografía líquida de alta presión (radio HPLC). **Resultados:** Cepas desarrolladas en un medio conteniendo hidrocarburos como única fuente de carbono son capaces de sintetizar derivados oxigenados para su propia economía. El metabolismo de [ $^3\text{H}$ ]n-octacosano produce [ $^3\text{H}$ ]ácido palmítico, como componente de la fosfatidiletanolamina y cantidades apreciables de  $^3\text{H}_2\text{O}$ . **Conclusiones:** La ruta metabólica más probable para la degradación de hidrocarburos de insecto por medio de microorganismos patógenos sería una oxidación terminal hasta obtener derivados oxigenados asimilables conjuntamente con mecanismos de  $\beta$ -oxidación.

**VE3. Presencia de *Triatoma platensis*, Neiva 1913, infectados en las inmediaciones de la vivienda humana.** E GIRALDEZ, R ROVERANO, M REMONTE.

*Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales. Fac. de Bioquímica y Cs. Biológicas. UJNL. Paraje El Pozo, Ciudad Universitaria. (3000) Santa Fe.*

El *Triatoma platensis*, triatomo de hábitat silvestre puede llegar hasta el domicilio humano, colonizando fundamentalmente en el peridomicilio. En el medio silvestre es una especie que vive esencialmente en los nidos de *Furnariidae*, eventualmente puede ocupar los nidos de *Psitacidos*, es común en nidos abandonados en los cuales han buscado refugio roedores arborícolas, pequeños marsupiales y ofidios. Las tareas de campo se realizaron en la localidad de Vera y Pintado, Pcia. de Santa Fe. Se caracterizaron y estudiaron peridomicilios de la zona, entendiéndose por esto, el espacio alrededor de la vivienda humana modificado por el hombre. Se diseccionaron todos los nidos de Fumaridos y Psitacidos encontrados en el mismo. Un nido colgado de un *Prosopis Algarobilla* (ñandubay) a unos 2 metros (m) de altura a 150 m, de la vivienda, correspondiendo

al límite externo de la estructura antrópica que rodea al asentamiento humano, se encontró colonizado por *Triatoma platensis*. Como resultado de la disección del nido se obtuvieron cinco ejemplares N5 de *T. platensis*, dos de sp. (Rodentia, Muridae) y uno de *Liophis sp.* (Reptilia, Ophidea, Culubridae). A los triatominos se les analizó el contenido intestinal, observándose dos ninfas positivas para *Tripanosoma* «tipo cruzi». Considerando la intensa predilección por las aves del *T. platensis*, lo puede llevar a invadir los gallineros y palomares del peridomicilio y al presentar una conducta típicamente silvestre manifestada por su atracción a la luz artificial, su hallazgo en las cercanías de la vivienda humana, lo hace particularmente importante en la participación del ciclo de la Enfermedad de Chagas.

**VE4. Estudio de las relaciones filogenéticas entre vectores de la enfermedad de Chagas.** BA GARCÍA<sup>1,2</sup>, JR POWELL<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>*Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas, UNC, 5016 Córdoba.* <sup>2</sup>*Department of Biology, Yale University, New Haven, CT, USA.*

A fin de estudiar las relaciones e historia evolutiva de diferentes especies del género *Triatoma*, se inició el análisis con siete especies disponibles que pertenecen al complejo *infestans* (*T. infestans*, *T. guasayana*, *T. sordida*, *T. platensis*, *T. brasiliensis*, *T. rubrovaria* y *T. vitticeps*) y un miembro del mismo género pero de diferente complejo (*T. circummaculata*). Se secuenciaron fragmentos de ADN de tres genes mitocondriales: 12S, 16S y Citocromo Oxidasa I (COI). Se obtuvo un total de 2304 pares de bases para cada uno de los dos ejemplares estudiados por especie. Los porcentajes de sitios variables fueron: 20,4%, 18,7% y 32,2% para 12S, 16S y COI respectivamente. *T. infestans* y *T. platensis* presentaron secuencias idénticas para el gen 12S, con sólo una y cuatro diferencias en 16S y COI respectivamente. La notable similitud observada entre estas dos especies puede deberse a introgresión del ADN mitocondrial. La reconstrucción filogenética se realizó mediante el método de máxima parsimonia (Swofford, 1993). Los árboles filogenéticos, inferidos individualmente a partir del total de las secuencias (12S+16S+COI) y de la combinación de 12S+16S, revelaron la estrecha relación existente entre *T. infestans* y *T. platensis* así como la del grupo formado por *T. guasayana*, *T. rubrovaria* y *T. circummaculata*. Por otra parte, la conexión entre *T. infestans* y *T. platensis* con el resto de las especies (excepto *T. vitticeps*) es igualmente bien establecida. El hecho de que *T. circummaculata*, miembro de otro complejo definido como tal en base a su morfología, esté estrechamente relacionado a especies del complejo *infestans* sugiere que la sistemática presente de este grupo no refleja afinidades filogenéticas.

**VE5. Estudios bioquímicos y ultraestructurales en gónadas de insectos triatominos.** PY SCARAFFIA, MS REMEDI, C MALDONADO\*, A AOKI\*, NM GEREZ DE BURGOS.



*Cátedra de Qca. Biológica y \*Centro de Microscopía Electrónica. Fac. de Cs. Médicas, U.N.C., C.C.35, Suc.16, 5016 Córdoba.*

Con el propósito de inferir posibles vías metabólicas funcionantes en testículos y ovarios de insectos triatomíneos (*T. infestans* y *D. maximus*), se efectuaron: a) Determinaciones de actividad hexoquinasa (HK), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), fructosa-6-fosfato quinasa (F6PK), glutamato deshidrogenasa (GLDH), aspartato aminotransferasa (AAT), malato deshidrogenasa (MDH) y glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (GPDH) y b) Estudios de microscopía electrónica. En testículos de *T. infestans*, los valores de actividad enzimática expresados en U/mg de P fueron: HK 0.073, F6PK 0.033; G6PDH 0.018; GLDH 0.015; AAT 0.067; MDH 0.746 y GPDH 0.018. En ovarios fueron: HK 0.030; F6PK 0.022; G6PDH 0.021; GLDH 0.031; AAT 0.064; MDH 0.950 y GPDH 0.037. Valores comparables hemos obtenido en los mismos tejidos de *D. maximus*. En ambas especies a partir de estos resultados es posible inferir: 1) En testículos los niveles más elevados de HK y F6PK con respecto a los de G6PDH indicarían una mayor degradación de la glucosa a través de la vía glicolítica. 2) En ovarios un consumo importante de glucosa se produciría a través de la vía de las pentosas. 3) Abundantes gotas lipídicas están presentes en células foliculares y oocitos. 4) La mayor actividad GLDH en ovarios indicaría una más alta capacidad de metabolizar aminoácidos en este tejido con respecto a testículos. 5) Los mayores niveles de actividad AAT y MDH con respecto a GPDH sugiere que el sistema malato-aspartato sería el principal conmutador de hidrógeno que opera en gónadas. 6) Los espermatoцитos poseen mitocondrias cuya forma, tamaño y disposición varía con el desarrollo. En células foliculares y oocitos se destacan mitocondrias pequeñas y delgadas.

**VE6. Caracterización de proteasas intestinales de *Dipetalogaster maximus*.** ML DANIELE, PY SCARAFFIA, MS REMEDI, C BURGOS, NM GEREZ DE BURGOS.

*Cátedra de Química Biológica. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C. C.C. 35 Suc. 16. 5016 Córdoba.*

Ha sido demostrado por Flawia y col (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993) que un péptido formado en el intestino de la vinchuca a partir de hemoglobina (Hb), activa la adenilato ciclasa y la metaciclologénesis de *T. cruzi*. En nuestro laboratorio estamos realizando un estudio de caracterización de proteasas en postmesenterón de *D. maximus* (vector de *T. cruzi*). Las determinaciones enzimáticas fueron realizadas utilizando como sustratos BTEE y TAME (especificidad tipo quimotripsina y tripsina, respectivamente). Dentro del rango de pH 4.5 a 8.5, con BTEE, la actividad proteolítica no presenta diferencias significativas. Por el contrario con TAME, la actividad disminuye marcadamente por encima de pH 6. También se investigó actividad de proteasa en geles de poliácridamida copolimerizados con hemoglobina. Los geles incubados

a 37°C y a pH 4.6 presentan dos bandas de actividad proteolítica (1 y 2). A pH 8 se observa sólo la banda 2 (menor movilidad electroforética). Con inhibidor de tripsina, tipo IS, no se detecta la banda de mayor movilidad electroforética. En presencia de TLCK y TPCK, inhibidores de serin proteasas, no se observa actividad proteolítica en los geles.

**VE7. Triatomíneos de Bahía Blanca: Respuestas biológicas a la infección con un picornavirus.** G ROZAS DENNIS, NJ CAZZANIGA.

*Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), CRIBABB, Camino de la Carrindanga km. 7, CC 738, 8000 Bahía Blanca.*

El picornavirus TrV fue postulado como posible agente de control biológico de *Triatoma infestans*. Nuestro proyecto contempla estudios de demografía experimental de esta especie y la posibilidad de utilizar el virus en otros triatomíneos de importancia epidemiológica. Se identificaron las especies de triatomíneos presentes en ambientes domiciliarios y peridomiciliarios de Bahía Blanca y se investigó si estaban naturalmente infectadas con el virus, aplicando técnicas de microscopía electrónica en materia fecal del insecto, purificación con siembra en gradientes de sacarosa 10%-30% y lecturas a OD<sub>260</sub>. La especie presente en la mayoría de los sitios de muestreo (n = 52) fue *T. infestans*, pero en cuatro oportunidades se halló *T. patagonica*, especie antropófila, importante mantenedora del ciclo de *Trypanosoma cruzi* en el medio silvestre y no registrada anteriormente en la Provincia de Buenos Aires al sur de Tornquist. No se halló evidencia de que ninguna de las dos especies esté naturalmente infectada con TrV en la zona, pero en laboratorio ambas fueron susceptibles a la infección viral. Se mantuvieron cohortes de vinchucas infectadas y no infectadas con TrV, en condiciones controladas (luz, temperatura, humedad), para la elaboración de tablas de vida. En *T. patagonica* el virus provocó muertes y retardo en la muda, que impidieron el desarrollo de una colonia reproductiva. Se presentan los resultados comparativos preliminares de supervivencia de una cohorte de *T. infestans* libre de TrV y una infectada, información que, al término de la experiencia, se completará con el cómputo de todos los restantes estadísticos vitales y de fecundidad.

**VE8. Características de la interacción entre *Triatoma infestans* KLUG, 1834 y *Triatoma sordida* STAL, 1859 en condiciones experimentales.** ME BAR, EB OSCHEROV, MP DAMBORSKY, G AVALOS, M ALVAREZ, E PORCEL.

*Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UNNE. 9 de julio 1449 (3400) Corrientes. Argentina.*

El objetivo de esta investigación fue conocer las características de la interacción entre poblaciones de *T. infestans* y *T. sordida* que convivían en un modelo físico y utilizaban un ave como recurso alimenticio. El diseño incluyó tratamientos simultáneos: *T. infestans* y *T.*



*sordida* fueron investigadas en una unidad experimental y en dos unidades controles construidas con ladrillos de adobe. Mensualmente cada unidad fue disecada para medir: tamaño de la población, fecundidad, fertilidad, mortalidad y longevidad. El crecimiento de las poblaciones de *T. infestans* siguió un modelo logístico, mientras que *T. sordida* no. La fecundidad media entre ambas especies no difirió estadísticamente ( $p=0,19$ ). La fertilidad media de *T. infestans* y *T. sordida* fue: 91,6 % y 71,3 % respectivamente; observándose diferencias significativas ( $p=0,0002$ ). La mortalidad media de *T. infestans* y *T. sordida* registró diferencias significativas ( $p=0,0078$ ). En *T. infestans* y *T. sordida* la longevidad media fue diferente (Kruskal-Wallis= 6,07;  $p=0,01$ ). Se concluye que *T. infestans* obtuvo mayor éxito colonizador, ya que después de convivir un año, se ha verificado un proceso de interferencia, lo que se traduce en incremento de la mortalidad y reducción de la eficiencia reproductiva de *T. sordida*.

**VE9. Morphological and biochemical aspects of the *Anopheles darlingi* salivary glands.** C KAMPF MOREIRA, O MARINOTTI, AT BIJOVSKY.

Departamento de Parasitologia-ICB-USP, 05508-900, São Paulo, SP.

The salivary glands of female anopheline mosquitoes are directly involved in the transmission of malaria parasites to the vertebrate hosts. The infective sporozoites remain in the glands until they are injected in the host during mosquito blood meal. We investigated some morphological and biochemical aspects of the adult female salivary glands of

*Anopheles darlingi*, the main malaria vector in Brazil. Salivary glands of female mosquitoes are paired organs that lie in the thorax on either side of the oesophagus. They have a medium lobe and two lateral lobes, comprising proximal and distal portions. Lobes are acinar structures, organised as a unicellular epithelium that surrounds a salivary duct. In the proximal portions of the gland, the duct wall has a cuticle. The cellular architecture is very similar among portions of the gland with secretory material appearing as large masses. The cells in the proximal portion of the lateral lobes show asynchronous cycles of secretory activity; they have a cisterneiform endoplasmic reticulum and fine filamentous secretory masses. The cells in the distal portion have a synchronic cycle of activity; with a reticulate endoplasmic reticulum and denser secretory masses, presenting a mottled pattern. The medium lobe cytoplasm is similar to the last one and the secretory masses are very uniform and extremely electrondense. Biochemical analysis revealed apyrase, alpha-glucosidase and lysozyme activities in the salivary glands extracts. The alpha-glucosidase and lysozyme activities are confined to the proximal portion of the gland while the apyrase is mainly accumulated in the distal portion. This differential distribution of the analysed enzymes reflects a specialisation of different regions of the gland for sugar and blood feeding. The observed morphological differences are probably correlated to the functional ones. Financial support: FAPESP, CNPq, UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.

---  
Germán Gargano. **Madrugadas.** Acrílico sobre tela; 1,40 x 1,50 m.  
Primer Premio, Salón Anual Manuel Belgrano, 1986.  
Cortesía del Museo de Artes Plásticas Eduardo Sívori,  
Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires.