

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 Zp, 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 TOUZ¹, T.E. NASH², HD LUJÁN¹.

¹Universidad Nacional de Córdoba, CC 35, Suc. 16. CP 5016. Córdoba, Argentina. ²National 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 santiaguense durante cuatro años. RE GÜRTLER,¹ MC CECERE,¹ DM CANALE,² MB CASTAÑERA¹, R CHUIT³.

¹Depto. de Biología, FCEN-UBA, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires. ²Servicio Nacional de Chagas (SNCh), 9 de Julio 356, 5000 Córdoba.

³Dirección 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 domiciliares 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 peridomiciliares, y no domiciliarios, hasta 1995. Los moradores coleccionaron *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 moradores.

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 hidrocarburos para su propia economía. El metabolismo de [³H]n-octacosano produce [³H]ácido palmítico, como componente de la fosfatidiletanolamina y cantidades apreciables de ³H₂O. **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 β-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*, triatomino 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 *Fumarilidae*, 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 *Fumarilidae* 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.* (Reftilia, 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 GARCIA^{1,2}, JR POWELL².

¹Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas, UNC, 5016 Córdoba. ²Department 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 triatominos (*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 espermatozoides 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 metacicloogénesis 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 poliacrilamida 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. Triatominos 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 triatominos de importancia epidemiológica. Se identificaron las especies de triatominos 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 OD₂₆₀. 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 Parasitología-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 electron-dense. 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.